

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1939

THÈSE

N°

159

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

ALICE AUDUREAU

Née le 21 octobre 1911, à La Baule.

SERVICE DE PHYSIOLOGIE MICROBIENNE DE L'INSTITUT PASTEUR
ET CLINIQUE OPHTALMOLOGIQUE DE L'HOTEL-DIEU

RECHERCHES SUR LES BACTERIES DE L'ŒIL

ÉTUDE DU GENRE MORAXELLA

Président : M. E. VELTER, Professeur

PARIS

ANC^{NE} IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

1, RUE CASSETTE, 1

1939

Année 1939
—

THÈSE

N°
—

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

ALICE AUDUREAU

Née le 21 octobre 1911, à La Baule.

SERVICE DE PHYSIOLOGIE MICROBIENNE DE L'INSTITUT PASTEUR
ET CLINIQUE OPHTALMOLOGIQUE DE L'HOTEL-DIEU

RECHERCHES SUR LES BACTÉRIES DE L'ŒIL

ÉTUDE DU GENRE MORAXELLA

Président : M. E. VELTER, Professeur

PARIS

ANC^{NE} IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

1, RUE CASSETTE, 1

1939

LE DOYEN TIFFENEAU

I. — PROFESSEURS

Anatomie	MM.
Physiologie	ROUVIÈRE.
Physique médicale	LÉON BINET.
Chimie médicale	STROHL.
Bactériologie	POLONOVSKI.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	ROBERT DEBRÉ.
Pathologie et thérapeutique générales	BRUMPT.
Pathologie médicale	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale	ABRAMI.
Anatomie pathologique	MONDOR.
Histologie	LEROUX.
Pharmacologie et matière médicale	CHAMPY.
Thérapeutique	TIFFENEAU.
Hygiène et médecine préventive	HARVIER.
Médecine légale	TANON.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	BALTHAZARD.
Pathologie expérimentale et comparée	LAIGNEL-LAVASTINE.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	FIESSINGER.
Clinique médicale	CHIRAY.
Hygiène et clinique de la première enfance	LOEPER.
Clinique des maladies des enfants	CARNOT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	CLERC.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	MARCEL LABBÉ.
Clinique des maladies du système nerveux	LEREBoullet.
Clinique des maladies infectieuses	NOBÉCOURT.
Clinique chirurgicale	H. CLAUDE.
Clinique ophtalmologique	GOUGEROT.
Clinique urologique	GUILLAIN.
Clinique d'accouchements	LEMIERRE.
Clinique gynécologique	CUNEO.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	GOSSET.
Clinique thérapeutique médicale	GRÉGOIRE.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LENORMANT.
Clinique thérapeutique chirurgicale	TERRIEN.
Clinique propédeutique	CHEVASSU.
Clinique de la tuberculose	COUVELAIRE.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	JEANNIN.
Clinique de cardiologie	LEVY-SOLAL.
Clinique de neuro-chirurgie	MOCQUOT.
Assistance Médico-sociale	OMBRÉDANNE.
Professeurs sans chaire	RATHERY.
	LEMAITRE.
	PIERRE DUVAL.
	M. VILLARET.
	TROISIER.
	MATHIEU.
	LAUBRY
	CLOVIS VINCENT.
	N...
	HAZARD.
	HOVELACQUE.
	MULON.
	OLIVIER.
	SANNIÉ.
	VERNE.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. AMELINE.	Pathologie chirurgicale.
BARIÉTY.	Pathologie médicale.
BÉNARD (HENRI).	Pathologie médicale.
BERNARD (ÉTIENNE).	Pathologie médicale.
BESANÇON (JUSTIN-).	Hydrologie.
BOULIN.	Pathologie médicale.
BULLIARD.	Histologie.
CATHALA.	Pathologie médicale.
CHEVALLIER.	Pathologie médicale.
COSTE.	Pathologie médicale.
DOGNON.	Physique.
FEY.	Urologie.
FUNCK.	Pathologie chirurgicale.
GALLIARD.	Parasitologie.
GASTINEL.	Bactériologie.
DE GAUDART D'ALLAINES.	Pathologie chirurgicale.
GAYET.	Physiologie.
DE GENNES.	Pathologie médicale.
GIROUD.	Histologie.
HAGUENAU.	Pathologie médicale.
HALPHEN.	Oto-rhino-laryngologie.
HUGUENIN.	Anatomie pathologique.
JOANNON.	Hygiène.
LACOMME.	Obstétrique.
LANTUÉJOUL.	Obstétrique.
LAROCHE (Guy).	Pathologie médicale.
LAVIER.	Parasitologie.
LELONG.	Pathologie médicale.
LEMAIRE.	Pathologie expérimentale.
LEVEUF.	Pathologie chirurgicale.
M ^{lle} J. LÉVY.	Pharmacologie.
LÉVY-VALENSI.	Neurologie et Psychiatrie.
MENEGAUX.	Pathologie chirurgicale.
MOLLAERT.	Pathologie médicale.
MOREAU.	Pathologie médicale.
MOULONGUET.	Pathologie chirurgicale.
MOUQUIN.	Pathologie médicale.
PETIT-DUTAILLIS.	Pathologie chirurgicale.
PIÉDELÈVRE.	Médecine légale.
PORTES.	Obstétrique.
RENARD.	Ophtalmologie.
RICHT.	Physiologie.
SÉNÈQUE.	Pathologie chirurgicale.
TURPIN.	Pathologie médicale.
VIGNES.	Obstétrique.
WILMOTH.	Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM. ALGLAVE.	Pathologie chirurgicale.
BUSQUET.	Pharmacologie.
CHAILLEY-BERT	Physiologie.
GUÉNIOT.	Obstétrique.
HEITZ-BOYER.	Pathologie chirurgicale.
LARDENNOIS.	Pathologie chirurgicale.
LE LORIER.	Obstétrique.
NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.
SCHWARTZ.	Pathologie chirurgicale.
VAUDESCAL	Obstétrique.

IV. -- AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE A TITRE PERMANENT

MM.		MM.	
ALAJOUANINE	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale.
AUBERTIN		BROCQ	
BRULE		CADENAT	
CHABROL.		GATELLIER	
DONZELOT		MOURE	
DUVOIR		QUENU	
LIAN.		VELTER.	
PASTEUR VALLERY-RADOT			
SÉZARY			

MM.	
ECALE	} Clinique obstétricale.
METZGER	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. CHAILLEY-BERT, agrégé.	Éducation physique.
LEDoux-LEBARD	Radiologie clinique.
RUPPE	Stomatologie.
WEILL-HALLÉ	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

A MES MAITRES A L'INSTITUT PASTEUR

Témoignage de respect et de gratitude.

TABLE DES MATIÈRES

I. — INTRODUCTION	5
II. — <i>Moraxella lacunata</i>	8
a) Variété <i>typica</i> , nov. var.	9
b) Variété <i>atypica</i> , nov. var.	22
III. — <i>Moraxella duplex</i>	26
a) Variété <i>liquefaciens</i>	26
b) Variété <i>non liquefaciens</i>	33
c) Variété <i>josephi</i>	36
d) <i>Moraxella duplex</i> des Bovidés	37
IV. — <i>Moraxella Lwoffii</i> , nov. sp.	42
a) Variété <i>bacteroides</i> , nov. var.	42
b) Variété <i>brevis</i> , nov. var.	46
V. — Le genre <i>Moraxella</i> considéré dans son ensemble . .	53
a) Définition du genre	53
b) Subdivision en espèces et en variétés. Clef dichotomique.	53
c) Exigences thermiques	55
d) Position systématique	55
VI. — CONCLUSIONS	57
VII. — BIBLIOGRAPHIE	59



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547527_0096

ÉTUDE DU GENRE MORAXELLA

I

INTRODUCTION

Le genre *Moraxella*, créé par A. Lwoff, 1939, groupe un ensemble de bactéries isolées de la conjonctive et présentant de grandes ressemblances morphologiques. Ce genre dérive du démembrement de la tribu des *Hemophilæ*, de la Société Américaine de Bactériologie, tribu très hétérogène qui réunit des bactéries fort différentes tant du point de vue morphologique que du point de vue physiologique. A. Lwoff a montré qu'il est impossible de classer côte à côte l'*Hemophilus influenzae*, ou bacille de Pfeiffer, bactérie isolée, longue et grêle ($0\text{ }\mu\text{ }4 \times 1\text{ }\mu$) et le bacille de Morax-Axenfeld décrit par Morax en 1896, de taille très supérieure ($1\text{ }\mu$ à $4\text{ }\mu$ 5×2 à $3\text{ }\mu$) et présentant un groupement caractéristique en diplobacille.

D'autre part, un certain nombre de bactéries ayant un aspect morphologique très voisin de celui du bacille de Morax, ont été isolées et étudiées par divers auteurs. Elles n'avaient pas encore trouvé place dans la classification américaine (3^e édition du Bergey's Manual 1939). Ce sont : le *B. duplex liquefaciens* décrit par Petit en 1900, ignoré du Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, mais signalé cependant dans le traité de Topley et Wilson (1936), le *B. duplex non liquefa-*

ciens isolé par Scarlett (1916) et retrouvé par Oliver et Wherry (1921), le *B. josephi* décrit par Scarlett (1916), enfin le *B. duplex* des bovidés étudié par Jones et Little (1923).

Ces diverses bactéries, réunies par A. Lwoff sous le nom générique de *Moraxella*, forment un groupe d'une très grande homogénéité morphologique et biologique, que l'on peut ainsi définir : bactéries de forme allongée, mesurant environ $0\ \mu\ 5$ à $1\ \mu$ de large sur $1\ \mu\ 5$ à $3\ \mu$ de long, présentant un groupement diplobacillaire caractéristique ; donnant dans les cultures, selon les espèces, de longues ou courtes chaînes ; produisant souvent, dans les cultures âgées, des formes d'invololution longues ; immobiles, non capsulées, ne formant pas de spores. La majorité des espèces se décolore par la méthode de Gram. Elles sont en général parasites de la muqueuse oculaire. Dans certains cas, elles peuvent s'établir sur la muqueuse nasale ou sur des lésions labiales ou même coloniser les bronches ; on rencontrera peut-être ultérieurement d'autres localisations.

Toutes les espèces jusqu'ici connues ne font fermenter aucun glucide et ne donnent pas d'indol en eau peptonée.

Pour la division du genre en espèces, A. Lwoff a utilisé le pouvoir de synthèse des bactéries. L'une des espèces, *Moraxella lacunata* groupe les formes ou variétés dont la multiplication exige la présence de sérum dans le milieu de culture. Le type de l'espèce *lacunata*, en même temps type du genre *Moraxella*, est communément appelé bacille de Morax-Axenfeld. L'autre espèce, *M. duplex*, groupe les formes capables de se développer dans les milieux de culture non additionnés de sérum. Le type de l'espèce *duplex* est *M. duplex liquefaciens* de Petit.

Nous avons repris l'étude de quelques-unes de ces bactéries, et précisé leurs caractères morphologiques et culturels. Nous étudierons successivement les diverses espèces du genre *Moraxella*, donnant pour chacune des formes un exposé historique de nos connaissances tant bactériologiques que cliniques et un exposé de nos recherches personnelles.

La recherche des diplobacilles de Morax et de Petit, dont nous nous proposons l'étude, ayant nécessité de nombreux examens de conjonctivites, effectués à l'Hôtel-Dieu dans le service du Professeur Terrien, nous avons eu l'occasion de ren-

contrer trois variétés nouvelles de diplobacilles. L'une, semblable au bacille de Morax par sa morphologie et par son développement exigeant la présence de sérum dans les milieux de culture, s'en distingue par l'absence de liquéfaction du sérum coagulé et de la gélatine. Les deux autres variétés se rapprochent du bacille *non liquefaciens*, avec lequel elles présentent certaines analogies culturales.

Mais elles ne peuvent être intégrées dans aucune des espèces connues. Nous créerons pour elles une espèce nouvelle dont les caractères seront établis et les affinités discutées.

Enfin, nous examinerons comparativement l'ensemble des espèces du genre *Moraxella* et nous essayerons de situer celui-ci parmi les Bactériacées.

Moraxella lacunata (Eyre 1900, emend., Lwoff 1939).

Un nom domine l'histoire du diplobacille de la conjonctivite subaiguë, c'est celui de Morax. En 1896, en effet, Morax publie son étude, aujourd'hui classique, sur une conjonctivite due à un diplobacille, et indique déjà l'essentiel sur son étiologie et sur son aspect clinique.

Après avoir pris connaissance de cette publication, Axenfeld relate à son tour ses observations sur la même affection. Enfin, quelques années plus tard, en 1900, Eyre en fait une étude bactériologique approfondie et donne pour la première fois le nom de *Bacillus lacunatus* au microbe, fixant ainsi son caractère le plus saillant, l'aspect « lacunaire » de la culture sur sérum coagulé dû à la liquéfaction du milieu.

C'est sous ce nom et sous celui de bacille de Morax-Axenfeld qu'on le trouve mentionné dans la littérature. Paraissant tout d'abord limité à la conjonctive, il est retrouvé plus tard dans des lésions cutanées labiales, dans les fosses nasales, etc., de sorte que Morax, en 1932, pouvait à juste titre parler « d'infection diplobacillaire ».

Mais il existe en réalité deux variétés de *Moraxella lacunata* :

1° La forme classique, découverte par Morax et revue par de nombreux auteurs ; elle liquéfie le sérum coagulé et ce caractère définira la variété *typica*, *nov. var.*

2° Une forme qui ne semble pas jusqu'ici avoir attiré l'attention et qui ne liquéfie pas le sérum coagulé. Nous l'étudions plus loin sous le nom de variété *atypica*, *nov. var.*

Moraxella lacunata variété *typica*, nov. var.
(diplobacille de Morax-Axenfeld).

Etude bactériologique. — La souche que nous avons étudiée, a été isolée du pus d'une conjonctivite subaiguë par Morax et Legroux en 1928. Elle a gardé les caractères typiques de l'espèce tels qu'ils ont été décrits par Morax, mais semble, ainsi que nous le verrons, avoir perdu son pouvoir pathogène pour l'homme.

MORPHOLOGIE. — Lorsqu'on recueille avec l'anse de platine un peu de la sécrétion muco-purulente d'une conjonctivite diplobacillaire, et qu'on l'étale sur une lame, les bactéries apparaissent, après coloration au bleu de méthylène, sous la forme d'éléments trapus, aux angles émoussés, d'aspect très nettement bacillaire. Souvent très nombreux, ils sont libres ou englobés par des polynucléaires ou des cellules épithéliales. Ils sont parfois, mais rarement, isolés ; le plus souvent associés par deux, ils présentent fréquemment de courtes chaînettes de 4 à 6 éléments au plus.

Ils ne sont jamais encapsulés. Ils sont immobiles et ne forment pas de spores.

Lorsqu'ils se présentent en diplobacilles, les deux éléments du couple sont séparés par un espace clair nettement visible. On peut rencontrer dans le pus des formes très courtes semblables à des diplocoques (Eyre). On n'y rencontre jamais de formes très longues telles qu'on en voit dans les cultures.

Chaque bactérie mesure $4\ \mu$ de large sur $2\ \text{à}\ 3\ \mu$ de long environ ; l'ensemble du diplobacille mesure de $5\ \text{à}\ 6\ \mu$ (Morax).

Elles se colorent d'une façon uniforme par les couleurs d'aniline et ne prennent pas le Gram. La coloration bipolaire signalée par Axenfeld est très rare.

Dans les cultures jeunes, la morphologie du bacille de Morax reste semblable à celle qu'il montre dans le pus, mais après vingt-quatre heures, il donne des formes involutives caractéristiques. Celles-ci existent sur tous les milieux de culture, mais elles sont plus abondantes sur sérum coagulé et en milieu liquide. Dans ce cas, chaque bâtonnet double ou triple ses

dimensions primitives et peut mesurer jusqu'à 13 ou 14 μ . Il prend ainsi l'aspect d'un véritable filament tout à fait homogène. Chacun des éléments constituant les chaînes prend les mêmes proportions, mais ceux-ci restent toujours séparés les uns des autres sans jamais fusionner. Les chaînes acquièrent ainsi des dimensions considérables atteignant 70 à 80 μ . Les formes d'involution de la souche de *Moraxella lacunata typica* que nous avons étudiée sont, on le verra, nettement différentes de celles de *M. duplex liquefaciens*.

Dans les cultures âgées, les bactéries prennent les colorants d'une façon inégale.

HABITAT. — Le diplobacille de Morax vit surtout sur les muqueuses oculaires humaines où il détermine une conjonctivite subaiguë ; dans de rares cas il peut y vivre sans provoquer de réactions conjonctivales. On le rencontre sur la muqueuse nasale, où il peut rester virulent pour la conjonctive, sur les commissures labiales atteintes de perlèche où il serait alors la cause de l'affection.

Il n'a été rencontré sur aucun animal et paraît être jusqu'ici rigoureusement adapté à l'homme. Nous examinerons ultérieurement le cas de la *Moraxella* des Bovidés.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Dès 1896, Morax signale le rôle favorisant du sang, du liquide d'ascite ou d'hydrocèle ajoutés aux milieux de culture, sur la multiplication de la bactérie. Il précise que sur tous les milieux dépourvus de ces éléments la culture est souvent impossible. En effet, lorsque le matériel d'ensemencement très abondant apporte assez de sérosité on peut obtenir sur gélose ordinaire une petite culture, mais les repiquages faits à partir de celle-ci restent négatifs.

Biard, dans sa thèse (1897), affirme isoler très facilement le diplobacille de Morax des fosses nasales et des sécrétions conjonctivales sur gélose ordinaire et sur gélose glycinée. Morax émet alors l'hypothèse que Biard n'a pas isolé le diplobacille de la conjonctivite mais une autre bactérie ; nous reviendrons sur cette question.

Nous avons pu vérifier sur la souche de la collection de l'Institut Pasteur que la multiplication de *Moraxella lacunata*

typica exige la présence de sérum dans le milieu de culture.

Diverses tentatives d'adaptation du diplobacille de Morax aux milieux ordinaires ont été entreprises par plusieurs auteurs. Eyre indique, en 1900, qu'il a réussi à adapter une souche de diplobacille à des milieux non additionnés de sérum, après 25 passages sur sérum de mouton coagulé. Il obtient alors des cultures, abondantes sur gélose, bouillon et lait, parfaitement repiquables en série, d'une bactérie qui primitivement ne se développait qu'en présence de sérum. C'est le seul résultat positif d'adaptation de cette bactérie qui ait été rapporté. Peut-être s'agissait-il dans ce cas non d'une *Moraxella lacunata*, mais d'une *M. duplex liquefaciens* pour laquelle le sérum est parfois un « facteur de départ » ainsi que nous l'établirons plus loin.

Mac Nab et Axenfeld, dans un travail relaté par Chiazzaro, signalent qu'il leur a été impossible d'adapter le diplobacille au milieu gélatiné. Nous avons repris l'expérience de Eyre ; notre souche de *Moraxella lacunata typica*, ne se multipliant pas en milieux ordinaires, a été ensemencée sur sérum de mouton coagulé. Des passages successifs ont été faits toutes les quarante-huit heures. Au bout du 25^e repiquage, nous avons ensemencé la souche sur milieu sans sérum et dès le 2^e passage les cultures ont été nulles. Nous n'avons donc pas réussi à reproduire l'expérience de Eyre et il semble que l'on doive actuellement considérer comme bien établi que le sérum est indispensable à la multiplication de la souche de *M. lacunata typica* de l'Institut Pasteur.

Sur gélose sérum, *Moraxella lacunata typica* donne au bout de vingt-quatre heures de très petites colonies transparentes, à peine visibles, se rapprochant beaucoup des colonies de pneumocoques. Après quarante-huit heures, les colonies deviennent légèrement grisâtres et plus apparentes.

Les bactéries produisent en bouillon-sérum ou en eau peptonée-sérum un trouble uniforme. Après agitation, le milieu prend au bout de vingt-quatre heures un aspect moiré. Il ne se forme pas de voile mais, au fond du tube, un léger dépôt qui s'accroît les jours suivants. Après le dixième jour, le dépôt s'accroît tandis que le milieu se clarifie.

Le sérum coagulé est liquéfié. Sur une culture de vingt-

quatre heures sur sérum incliné, on voit déjà une érosion de la surface du milieu à l'emplacement de chaque colonie. Il se forme, les jours suivants, de petits cratères qui s'élargissent et deviennent confluents. Le sérum finit par être entièrement digéré en dix à quinze jours environ. Cette rapide liquéfaction, qui permet de soupçonner la présence de *M. lacunata typica*, facilite considérablement sa séparation des microorganismes qui lui sont associés dans les conjonctivites.

Le lait ne permet pas sa multiplication. Dans le lait additionné de sérum, la culture devient possible. Nous n'avons pas observé la coagulation de la caséine signalée par Chiazaro. Selon cet auteur, le blanc d'œuf coagulé et le milieu de Dorset sont aussi attaqués et lentement liquéfiés.

La gélatine seule ne permet pas le développement de la bactérie, mais, additionnée de sérum, elle est en partie liquéfiée.

Le bacille de Morax ne se multiplie pas sur pomme de terre.

Au sujet des fermentations sucrées on trouve encore des contradictions dans les traités de bactériologie. Le Bergey's Manual indique que le diplobacille de Morax fait fermenter la mannite et certains autres glucides, tandis que Topley et Wilson signalent qu'il n'a sur eux aucune action. Devant ces discordances, nous avons étudié son action sur les glucides suivants : un pentose : l'arabinose, 3 hexoses, le glucose, le lévulose, le galactose, 3 dissaccharides : saccharose, maltose, lactose ; 2 polyalcools, glycérine, mannite, 2 polysaccharides : inuline, amidon.

Pour cela, nous avonsensemencé la bactérie dans des tubes d'eau peptonée additionnée de sérum, à laquelle nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution de ces divers glucides. Il n'y a pas eu de formation d'acide. Dans tous les cas nous avons obtenu une légère alcalinisation du milieu, alcalinisation mesurée au potentiomètre. Le milieu étant à pH 7,5 au début de l'expérience, est à pH 7,8 environ après huit jours de culture. Ceci aussi bien dans le tube témoin que dans les tubes additionnés de glucides.

La recherche de l'indol dans les cultures de dix jours en eau peptonée, faite par la méthode d'Ehrlich est négative (elle est en même temps positive dans les cultures du *B. coli* utilisé comme témoin).

Moraxella lacunata typica est aérobie strict. Nos recherches sur ce point, concordant avec celles de tous les expérimentateurs, nous ont montré qu'en gélose de Veillon au sérum elle ne se multiplie qu'en surface. Eyre a pratiqué des ensemencements en anaérobiose ; par des repiquages en série il a établi que la bactérie privée d'oxygène meurt en vingt-quatre heures. Des expériences nous ont permis de déterminer les températures limites compatibles avec le développement ; nous avons constaté que *M. lacunata typica* ne se multiplie pas à 22° ni à 39°. Le développement ne se fait qu'entre 28° et 37°, l'optimum étant voisin de 33°.

RÉSISTANCE. — La *résistance à la chaleur* de *Moraxella lacunata typica* est extrêmement faible.

Morax et Eyre ont indiqué qu'elle est tuée par une température de 58°, maintenue pendant quinze minutes.

Coppez en 1923, a refait un certain nombre d'expériences plus précises dont nous rapportons l'essentiel : des cultures de vingt-quatre heures sur gélose-ascite sont mises en suspension dans 5 cent. cubes de bouillon-ascite et réparties en ampoules. Ces ampoules sont laissées un temps variable à diverses températures puis leur contenu est ensemencé sur sérum coagulé. Les résultats suivants ont été obtenus : les cultures sont tuées par un séjour de trois minutes à 56°, tandis qu'elles résistent environ vingt-cinq minutes à 50°.

La *résistance dans le milieu extérieur* a fait l'objet de nombreuses recherches destinées à éclairer le mode de propagation du diplobacille. Ce sont tout d'abord Mac Nab et Axenfeld qui étudièrent sa résistance à la dessiccation ; des cultures développées sur gélose ascite sont disposées sur des fragments de bois et abandonnées à l'air. Les bactéries ainsi traitées meurent au bout de cinq jours.

Puis Erdmann provoquant dans les mêmes conditions la dessiccation de mucus nasal infecté ou de sécrétion conjonctivale, a constaté dans certains cas la survie de bactéries pendant quinze jours.

Morax rapporte en 1932 des expériences entreprises par Constatas à l'hôpital Lariboisière. Ce dernier recherche la résistance des diplobacilles dans l'eau ordinaire et remarque qu'ils

y restent vivants pendant un temps assez long, cinq jours environ quand la température de l'eau est comprise entre 6 et 10°. Si elle s'élève à 16°, les bactéries meurent en trente-six à quarante-huit heures.

Résistance dans les cultures. — Des cultures de *Moraxella lacunata typica* sur sérum coagulé, abandonnées à la température du laboratoire, meurent en trois jours. A 33°, la vitalité sur le même milieu est conservée pendant trois à quatre semaines.

DIAGNOSTIC. — Il est facile de différencier *Moraxella lacunata typica* du bacille de Friedländer. Celui-ci est plus court, encapsulé ; il se multiplie bien sur les milieux usuels. Il ne liquéfie pas le sérum coagulé, il fait fermenter certains glucides.

D'autre part il ne peut y avoir aucune confusion entre le bacille de Morax et les bactéries liquéfiantes telles que le *Proteus* et le *Bacillus subtilis* qu'on rencontre parfois sur la conjonctive.

Etude clinique. — La conjonctivite subaiguë diplobacillaire, individualisée par Morax, est une affection peu fréquente. On la rencontre en effet, d'après Morax, et Eyre, dans 2,5 p. 100 des cas de conjonctivite seulement.

Elle n'est pas influencée par la saison (Eyre). Nous en donnons une rapide description inspirée par les études de Morax et de Eyre. C'est une conjonctivite contagieuse mais ne donnant pas lieu à des épidémies comme la conjonctivite à bacille de Koch-Weeks. La source de contamination peut être parfois retrouvée ; Eyre cite le cas d'un enfant de quatre mois indubitablement contaminé par sa mère.

La période d'incubation varie de quatre à dix jours.

Le début de l'affection est brusque, le malade constate à son réveil que les paupières de l'un de ses yeux sont agglutinées. Une sécrétion muco-purulente s'est concrétée dans l'angle interne. Parfois, dans les jours précédents, le malade a pu remarquer une légère démangeaison.

Les signes fonctionnels sont peu importants. Le patient signale parfois un peu de photophobie et une certaine difficulté du travail à la lumière. Il se plaint d'une légère irritation

des paupières, d'une sensation de « gravier » dans l'œil, parfois de larmoiement.

En trois ou quatre jours l'inflammation atteint son acmé ; elle reste toujours modérée. L'affection est parfois unilatérale mais devient le plus souvent bilatérale. Elle a peu de tendances à la guérison spontanée et peut durer plusieurs mois sans aggravation.

A l'examen, on constate une rougeur nette de la conjonctive palpébrale inférieure surtout marquée dans l'angle interne, la caroncule est souvent rouge sombre. La conjonctive bulbaire est en général peu atteinte.

On trouve peu de sécrétion. Parfois on peut voir, dans le cul-de-sac conjonctival, quelques flocons de muco-pus grisâtre qui se collectent à l'angle interne. La sécrétion est plus importante la nuit et, pendant toute la durée de l'affection, les paupières sont collées au réveil.

Il est fréquent de constater à chaque angle de la fente palpébrale une rougeur très prononcée des téguments alors que le reste des paupières est apparemment normal. La peau présente alors des altérations, sécheresse, lésions érythémateuses, eczématisation, qui donnent à la conjonctivite un aspect caractéristique. C'est cet aspect qui a fait donner par quelques auteurs, à l'infection diplobacillaire, le nom de conjonctivite angulaire.

Mais il convient de faire remarquer que de nombreuses conjonctivites à *Moraxella lacunata typica* ne présentent pas l'aspect de conjonctivite angulaire. D'autre part, toute conjonctivite angulaire n'est pas fatalement diplobacillaire comme on a parfois tendance à l'admettre. Nous avons observé, à l'Hôtel-Dieu, 2 cas typiques de conjonctivite angulaire où l'examen direct de la sécrétion et la culture n'ont pu mettre en évidence que des staphylocoques blancs typiques.

La conjonctivite à *Moraxella lacunata typica* est rapidement jugulée par des instillations de collyre au sulfate de zinc de concentration variable suivant l'intensité de l'infection.

COMPLICATIONS. — La conjonctivite subaiguë présente en général une évolution prolongée mais bénigne. Cependant, elle peut parfois se compliquer d'ulcère de la cornée. Petit a

montré que l'ulcération paraît fréquemment primitive, la conjonctivite ayant été extrêmement légère, et seuls un examen clinique attentif et une culture peuvent prouver son existence.

La lésion cornéenne consiste, au début, en une petite infiltration grisâtre siégeant près du limbe, longue et étroite. Elle s'ulcère les jours suivants et prend un aspect en coup d'ongle. Elle reste en général superficielle et se complique exceptionnellement d'iritis et d'hypopyon. Elle guérit parfois spontanément ou cède en tout cas rapidement au traitement par le collyre au sulfate de zinc. La cicatrisation se fait en sept à huit jours. Elle laisse en général une petite taie difficilement visible, ne gênant pas la vision puisqu'elle est périphérique.

Le diplobacille de Morax, pendant longtemps, n'a été signalé que sur la conjonctive. Il n'avait jamais été rencontré en dehors des cas de conjonctivite. Plus tard, des observations diverses ont permis d'établir, nous l'avons dit, que, dans certaines conditions, il pouvait parasiter les lésions de la perlèche labiale et peut-être même la déterminer.

Lobanoff le remarque pour la première fois chez un malade atteint d'une conjonctivite diplobacillaire et de perlèche. De la sécrétion des fissures commissurales, il isole le diplobacille de Morax. Dans ce cas, Lobanoff admet même que les lésions labiales étaient apparues avant la conjonctivite.

Plus tard, Yshihara examine 27 cas de perlèche. Il trouve chez tous les malades un diplobacille ne prenant pas le Gram. Une épreuve de virulence est tentée. Deux des souches isolées sont inoculées sur la conjonctive de 2 enfants. Il se développe dans les 2 cas une conjonctive subaiguë. Dans une contre-épreuve, l'auteur fait un certain nombre de prélèvements sur des commissures saines ; il ne parvient pas à mettre le diplobacille en évidence. Celui-ci n'est donc pas un hôte normal de la peau. Yshihara en conclut qu'il est bien l'agent causal de la perlèche.

Gabriélidès, par l'examen de 14 cas de perlèche, isole douze fois le diplobacille. Dans deux de ces cas seulement il y avait coexistence avec une conjonctivite subaiguë. Il en déduit, comme Yshihara que l'agent étiologique de la perlèche est le bacille de Morax.

Nous avons rencontré un cas de conjonctivite bilatérale

accompagnée de perlèche dont l'étude contredit les conclusions d'Yshihara et de Gabriélidès. Il s'agit d'une femme présentant une conjonctivite subaiguë évoluant depuis six mois, et des lésions de perlèche à répétition, s'atténuant parfois pour reparaitre quelques jours plus tard. La culture de la sécrétion conjonctivale donne des colonies d'un diplobacille ne prenant pas le Gram, différent par ses caractères de culture de *Moraxella lacunata typica* et dont nous parlerons plus loin. Les cultures faites à partir des lésions commissurales montrent uniquement des streptocoques et des staphylocoques. Voici donc un cas où ni la conjonctivite, ni la perlèche, n'étaient causées par le diplobacille de Morax.

La coexistence de conjonctivite et de coryza chez certains malades devait tout naturellement entraîner des recherches sur la présence de *Moraxella lacunata typica* dans les fosses nasales.

Coppez (1925), rapporte ces recherches dans son étude sur le diplobacille : Treacher-Collins, Axenfeld, Reis, Gifford le trouvent très souvent dans les fosses nasales de malades atteints de conjonctivite. Erdmann l'y rencontre dans 30 p. 100 des cas, à condition de faire le prélèvement en arrière de l'abouchement du canal lacrymo-nasal. Enfin Coppez dans 30 conjonctivites à bacille de Morax, trouve la bactérie neuf fois dans le mucus nasal.

Sur 3 cas d'ulcère à hypopyon causé par le même organisme, la culture du mucus est positive dans 1 cas. Ces résultats sont donc en tous points comparables à ceux d'Erdmann. Ils étaient d'ailleurs prévisibles, le diplobacille entraîné par les larmes trouve dans les fosses nasales des sérosités qui permettent sa multiplication pendant un certain temps. Cependant dans la plupart des cas il disparaît après la guérison de la conjonctivite. Biard a cherché si la bactérie pouvait parfois se trouver spontanément dans les fosses nasales, celles-ci constituant alors un réservoir de virus pouvant être le point de départ de nouvelles contaminations nasales et oculaires. Il la recherche sur la muqueuse nasale de 30 personnes n'ayant jamais eu de conjonctivite ou n'en ayant pas eu depuis longtemps. Il trouve 28 cas positifs, le prélèvement de mucus étant fait sur la cloison.

Le travail de Biard ne nous paraît pas devoir être retenu.

L'identification du germe ne nous semble pas avoir été fondée sur des caractères valables. Le diagnostic est le plus souvent porté d'après l'examen direct sur lame du mucus nasal. Et, dans les rares cas où l'isolement a été effectué, les éléments utilisés pour l'identification sont insuffisants. Biard fait le diagnostic de diplobacille de Morax sur les caractères suivants : « bactérie Gram négative non pathogène pour les animaux ne poussant ni sur gélatine, ni sur bouillon. » Il n'y est pas fait état de ses caractères essentiels : la liquéfaction rapide du sérum coagulé, l'absence de culture sur gélose. Au contraire le bacille est isolé par l'auteur sur gélose ordinaire ou glycinée.

Nous avons indiqué précédemment la nécessité absolue de la présence de sérum dans le milieu de culture. Il ne se développe sur gélose que lorsque le matériel très abondant a apporté assez de sérosité pour assurer sa croissance. Même dans ce cas, au deuxième passage sur un milieu semblable, la culture est nulle. L'hypothèse que Biard aurait rencontré une bactérie de l'espèce *duplex* ne semble pas non plus devoir être retenue.

En fait les résultats obtenus par Biard ne tardaient pas à être infirmés. Ses expériences furent répétées par Morax et Petit, puis par zur Nedden, toujours avec des résultats négatifs.

Cependant en 1905, Erdmann relate une série de recherches intéressantes. Il pratique 142 examens de fosses nasales sur des sujets indemnes de conjonctivite. L'examen direct des frottis de mucus montre le diplobacille dans 64 cas. Malheureusement des cultures ne sont pas pratiquées dans tous les cas, 26 cultures seulement sont faites qui donnent 18 résultats positifs. Une épreuve de virulence est tentée : l'inoculation à l'homme d'une goutte de mucus nasal infecté provoque l'apparition d'une conjonctivite typique. Erdmann avait donc, par cette expérience, démontré que le diplobacille de Morax virulent est capable de végéter sur la muqueuse nasale, et il mettait en évidence le rôle joué par les fosses nasales comme réservoir de virus.

Coppez reprenant les mêmes recherches, ne trouve aucun cas positif. On peut conclure de l'ensemble de ces recherches que *Moraxella lacunata typica* se trouve fréquemment sur la

muqueuse nasale de sujets atteints de conjonctivite subaiguë (dans un tiers des cas environ). Mais d'autre part, s'il paraît démontré qu'un diplobacille virulent puisse être rencontré sur la muqueuse nasale de personnes indemnes de toute inflammation conjonctivale et si par là, le rôle joué par les fosses nasales comme réservoir de virus peut être admis, il n'en est pas moins vrai que les nombreux examens négatifs pratiqués tendent à prouver que *Moraxella lacunata typica* n'est pas un hôte fréquent de la muqueuse nasale.

On a souvent nié la possibilité de trouver le diplobacille de Morax sur la conjonctive saine. Morax, puis Hoffmann en 1899, signalent qu'on ne le trouve pas hors des cas de conjonctivite. Plus tard Plaut et Zelewski sur 40 examens faits systématiquement avant extirpation du sac lacrymal, chez des sujets indemnes de conjonctivite, le rencontrent trois fois.

Coppez en 1923 examine 14 conjonctivites saines, il isole une fois un bacille de Morax typique. L'épreuve de virulence sur la conjonctive humaine n'a pas été faite.

Il paraît donc démontré, et ceci a été admis par Morax en 1932, que le diplobacille peut vivre sur la conjonctive sans y causer d'inflammation, soit qu'il y détermine une infection inapparente, soit que son pouvoir pathogène soit très diminué. Mais cette dernière hypothèse étant admise, on peut tout de même considérer que dans certaines conditions, le bacille peu virulent pourrait redevenir pathogène et constituer le point de départ de nouvelles infections.

Comment se fait la propagation de l'affection ? Certes, il arrive parfois que l'on puisse retrouver nettement la source du contagé, la transmission se faisant par les doigts ou les objets de toilette souillés ; Coppez a établi en effet que les doigts d'un sujet, après contact avec sa conjonctive malade, restent porteurs de germes pendant vingt à trente minutes. Mais ces cas sont extrêmement rares et, en général, il n'est pas possible de retrouver la source de l'infection. Elle a en effet de nombreuses voies de propagation.

La résistance à la dessiccation de *Moraxella lacunata typica* permet son transport par les poussières de l'air. Elle parvient ainsi, soit sur les fosses nasales d'un sujet sain, soit directement sur la conjonctive.

La contamination des fosses nasales étant accomplie, la bactérie peut gagner la conjonctive par l'intermédiaire du canal lacrymo-nasal, même sans atteinte de celui-ci, réalisant une infection ascendante. Cette hypothèse a été émise par Biard, et est fondée sur le fait qu'une telle propagation a été prouvée par Cuénod pour le streptocoque. Mais la contamination pourrait aussi bien se faire par l'intermédiaire du mouchoir.

La propagation de l'affection par l'eau des piscines n'est pas impossible, la bactérie vivant pendant plusieurs jours dans l'eau, mais il faut noter qu'elle n'a jamais été signalée par les malades (Morax), tandis que la transmission du bacille de Koch-Weeks dans les mêmes conditions est parfaitement connue et accusée spontanément par les personnes atteintes de conjonctivite aiguë.

Enfin, les mouches peuvent jouer un rôle dans le transport des bactéries. Des expériences faites à l'Institut Pasteur de Tunis par Wolmann et rapportées par Morax ont montré que les mouches peuvent entraîner sur leurs pattes le bacille de Morax et rester infectées, donc dangereuses, pendant trois heures et demie ; après ce temps l'autostérilisation de l'insecte est complète.

Devant cette résistance non négligeable de *Moraxella lacunata typica* dans le milieu extérieur, on reste étonné de la rareté relative de l'affection qui ne procède jamais par épidémies. Il faut admettre que la virulence de la bactérie s'atténue très rapidement lorsqu'elle quitte son hôte humain.

Etude du pouvoir pathogène expérimental. — Dès sa première étude sur la conjonctivite subaiguë, Morax indique nettement que le diplobacille en est l'agent étiologique et tente de reproduire expérimentalement l'affection par instillation d'une goutte de culture sur la conjonctive saine d'un sujet. Après une incubation de cinq jours, celui-ci se réveille un matin avec une agglutination des paupières. L'examen du pus collecté à l'angle interne révèle la présence de nombreux diplobacilles. Cette conjonctivite expérimentale montre les mêmes symptômes qu'une conjonctivite spontanée, démanaison des paupières, rougeur de la conjonctive sans œdème,

agglutination palpébrale le matin. L'affection devient bilatérale. Elle guérit en cinq jours par le traitement au sulfate de zinc.

Morax a donc démontré le pouvoir pathogène du diplobacille. Après lui, l'expérience a été renouvelée, trois fois par Axenfeld avec une inoculation négative et deux positives, deux fois par Eyre et une fois par Hoffmann avec succès.

Le diplobacille de Morax semble perdre sa virulence dans les cultures. Nous avons déposé sur notre conjonctive une goutte d'une culture de vingt-quatre heures en eau peptonée et sérum de la souche de la collection de l'Institut Pasteur isolée en 1928 par Morax et Legroux. Elle n'a déterminé aucune sécrétion ni réaction conjonctivale.

L'inoculation est tentée sur divers animaux, par Morax en 1896 et nous ne pouvons mieux faire que de reproduire son opinion : « L'inoculation de culture de diplobacille sur la conjonctive des animaux, ne provoque aucune réaction même si les doses sont très considérables. Sur la conjonctive du singe, du chien, du lapin, du cobaye, le diplobacille ne se développe pas et, après vingt-quatre heures, il a complètement disparu du cul-de-sac. L'inoculation de cultures en bouillon-ascite faite dans le tissu cellulaire de la souris, dans la cavité péritonéale du cobaye, dans le muscle pectoral du pigeon, dans les veines ou sur la peau du lapin, ne produit chez ces différents animaux aucun trouble local ou général, et Morax conclut : « Les animaux de laboratoire sont donc absolument réfractaires au développement de cet organisme ».

Tous les expérimentateurs qui suivirent Morax dans ce domaine obtinrent les mêmes résultats négatifs. Eyre tente d'exalter la virulence du bacille en lui associant de la toxine de *Proteus vulgaris* et en l'injectant par voie intrapéritonéale ou intraveineuse. Les résultats sont nuls.

Le pouvoir pathogène du diplobacille paraissait donc limité à l'homme quand Morax eut l'occasion d'étudier un chimpanzé atteint spontanément de blépharo-conjonctivite. L'œil malade présente une sécrétion modérée, les paupières ont un aspect craquelé ; l'affection est en tous points semblable à la conjonctivite subaiguë humaine.

Le frottis de la sécrétion muco-purulente montre un diplo-

bacille semblable au diplobacille de Morax et présentant les mêmes caractères culturels. Morax tente alors l'inoculation de cette bactérie à la conjonctive d'autres chimpanzés. L'expérience est toujours négative. L'inoculation à l'homme n'a pas été faite. La perte accidentelle de la souche amène la cessation des expériences avant que des résultats intéressants aient pu être obtenus. Cependant le diplobacille du chimpanzé présentant la même sensibilité à la température et au sulfate de zinc que le diplobacille humain, Morax conclut à l'identité probable des deux microorganismes.

Enfin, Petit essaie d'extraire une toxine par filtration des cultures de *Moraxella lacunata typica* en milieu liquide. Il instille le filtrat goutte à goutte dans le cul-de-sac conjonctival d'un lapin pendant deux ou trois heures. Il produit une injection de la conjonctive palpébrale et bulbaire, un peu d'œdème conjonctival et une sécrétion notable. Cette injection persiste pendant tout le temps que dure l'instillation puis diminue progressivement pour disparaître peu de temps après. Ce résultat est tout à fait analogue à celui qui est obtenu avec le gonocoque et le bacille de Koch-Weeks. Mais pour pouvoir affirmer qu'une réaction aussi légère est due effectivement à l'action d'une toxine, il aurait été nécessaire de faire la même expérience avec le milieu de culture non ensemencé.

Moraxella lacunata variété *atypica*, nov. var.

Nous avons isolé d'une conjonctivite aiguë contagieuse une nouvelle variété de diplobacille. Par ses caractères morphologiques et physiologiques elle doit être considérée comme une *Moraxella*. Nous la décrivons sous le nom de *M. lacunata atypica*, nov. var., variété justifiée nous le verrons, par l'un de ses caractères culturels.

Etude bactériologique. — MORPHOLOGIE. — Morphologiquement, c'est une *Moraxella* typique, sa forme est semblable à celle de *M. lacunata typica*. Dans les cultures, les diplobacilles sont isolés ou disposés en chaînes. Chaque bac-

térie mesure $1\ \mu\ 5$ à $3\ \mu$ de longueur sur $0\ \mu\ 8$ de largeur en moyenne.

Dans les cultures âgées, on note des formes d'involution comparables à celles des autres *Moraxella* : bâtonnets isolés mesurant 8 à $15\ \mu$, longs filaments formés par la fusion des bactéries constituant les chaînes

La bactérie est Gram-négative, mais la décoloration par l'alcool est parfois assez lente. Ce caractère a déjà été signalé par Jones et Little pour la *Moraxella* des Bovidés.

Elle ne possède pas de capsules et ne donne jamais de spores.

CARACTÈRES CULTURAUX. — On ne peut obtenir de culture de cette bactérie sur les milieux usuels. Elle ne se multiplie qu'en présence de sérum et se comporte sur ce point comme *M. lacunata typica*.

Nous avons pratiqué de nombreux essais de culture sans sérum. Au 25^e passage après l'isolement, la huitième tentative de culture dans les milieux dépourvus de sérum n'a encore donné aucun résultat positif.

Sur gélose-sérum les colonies sont étalées, bleutées et transparentes. En bouillon-sérum, la culture donne un trouble homogène.

Moraxella lacunata atypica ne liquéfie pas la gélatine ni le sérum coagulé. La culture sur sérum coagulé est pauvre ; sur ce milieu les bactéries meurent en quelques jours à 35°. La non liquéfaction du sérum est le caractère qui permet de la différencier de *M. l. typica*.

M. lacunata atypica ne se multiplie pas sur pomme de terre. Elle se développe bien dans le lait tournesolé additionné de sérum et acidifie légèrement le milieu ; le lait non additionné de sérum ne permet pas sa culture.

Elle ne produit pas d'indol dans les cultures en eau peptonée. La recherche de l'indol faite par la méthode d'Ehrlich est négative, alors que le *B. coli* utilisé comme témoin donne une réaction très fortement positive.

Elle ne fait pas fermenter les glucides. Nos expériences ont porté sur le glucose, le lévulose, le galactose, l'arabinose, le saccharose, le lactose, le maltose, l'amidon, l'inuline, et sur

les polyalcools : glycérine, et mannite. Des cultures faites en eau peptonée additionnée de ces substances sont très légèrement alcalinisées. Elles passent de pH 7,4 au début de l'expérience à pH 7,5 à 7,8 au dixième jour de culture, le témoin étant alors à pH 7,55.

Moraxella lacunata atypica ne se multiplie ni à 22° ni à 39°. La culture n'est abondante que lorsque la température est comprise entre 28° et 37°. La température optima est voisine de 35°.

Elle est aérobic stricte.

Pouvoir pathogène spontané. — Son pouvoir pathogène spontané semble très voisin de celui de *M. lacunata typica*. Nous avons trouvé ce diplobacille dans un cas de conjonctivite aiguë chez un enfant de neuf mois. L'affection tout d'abord localisée à un œil, atteint les deux yeux au bout de quelques jours. Puis la sœur du malade présente à son tour une conjonctivite bilatérale. Les signes cliniques se bornent chez les deux enfants à une irritation assez intense de la conjonctive avec sécrétion abondante et agglutination des paupières au réveil. Des frottis de la sécrétion montrent des polynucléaires et des diplobacilles en grand nombre.

L'évolution a été bénigne : des instillations d'argyrol ont amené la guérison en quelques jours.

Pouvoir pathogène expérimental — L'instillation d'une goutte de culture de vingt-quatre heures sur la conjonctive du lapin ne provoque aucun symptôme morbide.

L'inoculation d'une goutte de suspension bactérienne dans la chambre antérieure amène l'apparition, au bout de vingt-quatre heures, d'un exsudat blanchâtre de la chambre antérieure, et une opacité de la cornée au point d'inoculation, accompagnée d'une légère hyperhémie conjonctivale et irienne. L'exsudat diminue assez rapidement et a presque complètement disparu cinq jours après l'inoculation.

L'inoculation dans les lames de la cornée du lapin, de quelques gouttes d'une suspension de bactéries en eau physiologique provoque une opacité étendue de la cornée, de l'hyperhémie conjonctivale et un peu de sécrétion. Une culture de cette

sécrétion permet de retrouver le bacille quarante-huit heures après l'inoculation.

M. lacunata atypica présente donc un faible pouvoir pathogène sur le lapin, inoculée par voie intra-cornéenne ou dans la chambre antérieure de l'œil.

Cette bactérie est très voisine de *M. lacunata typica*. Elle ne peut se multiplier en l'absence de sérum, nous la classerons donc dans l'espèce *lacunata*. Mais l'absence de pouvoir de liquéfaction du sérum ne nous permet pas de la confondre avec *M. lacunata typica*, et nous en ferons une variété distincte de celle-ci. Nous la désignerons sous le nom de *Moraxella lacunata atypica nov. var.*

III

Moraxella duplex.

Moraxella duplex variété *liquefaciens* (Petit).

Moraxella duplex liquefaciens a été découverte par Petit en 1900 dans des ulcères cornéens. D'après cet auteur, sa morphologie est très voisine de celle de *M. lacunata typica* ; elle s'en différencie essentiellement par la faculté de se multiplier en milieux de culture ordinaires sans adjonction de sérum, ce dont *M. lacunata typica* est incapable.

Nous avons étudié deux souches de ce diplobacille, l'une, que nous devons à l'obligeance de M. Legroux, provient de la collection de l'Institut Pasteur ; elle a été isolée par Petit ; nous avons trouvé l'autre dans le pus d'une conjonctivite subaiguë typique, localisation rare ainsi que nous l'établirons plus loin.

Etude bactériologique. — MORPHOLOGIE. — Dans le pus, les bacilles de Petit sont, comme les diplobacilles de Morax, des bactéries de forme allongée, un peu trapues, aux extrémités légèrement arrondies, se présentant en général en diplobacilles. Souvent, certains éléments ont une forme moins nettement bacillaire et ressemblent au pneumobacille de Friedländer (Petit). Les bacilles de Petit sont habituellement très nombreux et sont soit libres, soit inclus dans les leucocytes. Chaque bactérie isolée mesure en moyenne 2 μ de long sur 1 μ de large. Ses dimensions sont donc un peu plus faibles que celles de *Moraxella lacunata typica*.

Le diplobacille de Petit ne prend pas le Gram et se colore

facilement par les couleurs d'aniline. Il est immobile, ne présente pas de capsules et ne forme pas de spores.

Dans les cultures de vingt-quatre heures sur gélose, les bactéries ont le même aspect que dans la sécrétion de l'ulcère, mais il n'est pas rare de trouver des éléments très courts ressemblant à des diplocoques.

Dans les cultures âgées sur sérum coagulé et en eau peptonée, les deux souches étudiées se comportent de façon différente. La souche que nous avons isolée donne seulement de courtes chaînes de 4 à 5 éléments, tandis que la souche de la collection de l'Institut Pasteur forme de très longues chaînes occupant souvent plusieurs champs du microscope. Nous avons déjà noté la facilité avec laquelle *Moraxella lacunata* de la collection de l'Institut Pasteur forme de longs filaments. La question se pose d'une relation possible entre le temps de conservation en culture et l'aptitude à donner de longues chaînes ou filaments.

Dans les cultures de six à sept jours en eau peptonée ou sur sérum coagulé, les bactéries présentent des formes d'involution différentes de celles de *Moraxella lacunata typica* que nous avons décrites plus haut. Tandis que le bacille de Morax acquiert des dimensions très importantes, le bacille de Petit conserve sa longueur normale mais les éléments constituant les chaînes fusionnent rapidement. Les chaînes sont alors transformées en très longs filaments. A ce stade de son évolution, *M. duplex liquefaciens* est très facile à colorer, mais au bout de quelques jours la coloration devient inégale.

HABITAT. — Le bacille *duplex liquefaciens* est l'agent étiologique de certains ulcères de la cornée. Dans des cas très rares, il a été rencontré à l'état saprophyte sur des conjonctives. Enfin, nous l'avons isolé, et ceci pour la première fois à notre connaissance, d'un cas de conjonctivite subaiguë.

CARACTÈRES CULTURAUX. — *Moraxella duplex liquefaciens* se multiplie sur les milieux ordinaires ce qui constitue, d'après la classification de A. Lwoff (1939), son caractère différentiel fondamental avec *M. lacunata typica*. Cependant nous devons ici faire une remarque très importante. Certaines souches de

Bacille de Petit se développent mal dans les milieux dépourvus de sérum au début de leur isolement en culture. Il serait alors facile de les confondre avec *Moraxella lacunata typica*. Mais après 2 ou 3 repiquages en eau peptonée + sérum, ces souches commencent à se multiplier abondamment dans les milieux sans sérum. Le sérum n'a donc été qu'un « facteur de départ », au sens de Lwoff (1938), nécessaire à la bactérie pendant les premiers passages *in vitro* seulement, facteur favorisant son adaptation aux milieux usuels. *M. lacunata typica*, dans les mêmes conditions, ne peut s'adapter aux milieux dépourvus de sérum et le sérum lui est nécessaire comme source de facteur de croissance.

Sur gélose ordinaire, *M. duplex liquefaciens*, donne en vingt-quatre heures des colonies de 1 millimètre de diamètre, arrondies, grisâtres, opaques, plus épaisses que celles du bacille de Morax et très abondantes.

Elle liquéfie le sérum coagulé très rapidement. La liquéfaction est déjà très visible au bout de vingt-quatre heures ; elle est complète en six à sept jours.

En bouillon et en eau peptonée à pH 7,4, la bactérie se développe parfaitement, donnant un trouble abondant et un dépôt grisâtre. Nous sommes sur ce point en contradiction avec Petit qui n'a pas réussi à obtenir de culture sur ces milieux.

Dans le lait, certaines souches se multiplient et digèrent la caséine, d'autres ne se développent pas.

La culture sur pomme de terre paraît également variable suivant les espèces. Petit et Chiazzaro obtiennent un développement formant un léger enduit blanc-jaunâtre, visqueux. Pour notre part nous n'avons eu aucun résultat positif.

Ensemencée sur gélatine par piquûre, *M. duplex liquefaciens* se multiplie très abondamment et liquéfie le milieu. La liquéfaction est totale en deux à trois semaines à 22 degrés.

Elle liquéfie également le blanc d'œuf coagulé et le milieu de Dorset (Chiazzaro).

M. duplex liquefaciens ne produit pas d'acide en présence des glucides suivants : glucose, lévulose, galactose, arabinose, saccharose, lactose, maltose, mannite, glycérine, amidon, inuline. Le pH mesuré au potentiomètre, après trois jours et

après six jours de culture, montre une légère alcalinisation semblable à celle des tubes témoins. Le milieu étant à pH 7,5 au moment de l'ensemencement, varie à la fin de l'expérience entre 7,8 et 8,0.

Il ne se forme pas d'indol en eau peptonée même après dix jours de culture. Nous avons pratiqué la recherche de l'indol par la méthode d'Ehrlich (elle s'est montrée positive avec le colibacille utilisé comme témoin).

Le bacille de Petit est aérobic strict.

Nos deux souches de *M. duplex liquefaciens* se multiplient rapidement à 22°. La température maxima s'est montrée variable suivant les souches. Celle de la collection de l'Institut Pasteur ne se multiplie pas au-dessus de 37°, tandis que celle que nous avons isolée se développe encore parfaitement à 39°. Pour chacune des souches la température optima semble être voisine de 33°.

RÉSISTANCE. — Chiazzaro a éprouvé la résistance à la chaleur par le procédé qu'il avait utilisé pour *Moraxella lacunata typica*. Le bacille de Petit en suspension en eau physiologique mis en ampoules scellées est tué en trois minutes à 56°.

Il est beaucoup plus résistant dans les cultures que le bacille de Morax. Il conserve sa vitalité pendant plus d'un mois sur gélose à la température du laboratoire.

L'étude de *M. duplex liquefaciens* en culture montre donc déjà des dissemblances importantes avec *M. lacunata typica* ; différences morphologiques : dans la taille (plus faible) et les formes d'involution ; différences culturelles, développement possible sur les milieux ordinaires ne contenant pas de sérum, multiplication à 22°.

Enfin Chainé, en 1914, a mis en évidence leurs différences sérologiques. Par injections intraveineuses répétées de cultures de bacille de Morax et de bacille de Petit à des lapins, il obtient des sérums ayant acquis des propriétés agglutinantes et précipitantes spécifiques. Ces sérums mis en présence d'une suspension des bactéries homologues en provoquent l'agglutination au 1/2.000 ; en présence d'une suspension filtrée des bactéries correspondantes, Chainé obtient la précipitation pour une dilution du sérum de 1 p. 30. Mais les expériences

de précipitation et d'agglutination croisées sont négatives quelle que soit la dilution.

Des résultats analogues furent publiés par Scarlett (1916) et Chiazzaro (1923).

Pouvoir pathogène spontané. — *Moraxella duplex liquefaciens* est l'agent étiologique de certains ulcères de la cornée. Jusqu'ici on ne l'avait rencontré dans aucune autre affection oculaire, la localisation à la conjonctive n'ayant été signalée qu'une fois par Axenfeld (1904). La possibilité de cette localisation n'avait pas été admise (Oreste) et Chainé avait pu écrire que les caractères cliniques des affections causées par le bacille de Petit (ulcère cornéen) et par le bacille de Morax (conjonctivite), autorisait à poser leur diagnostic étiologique. Nous verrons plus loin qu'il n'en est rien et que le bacille de Petit peut parfaitement causer des conjonctivites subaiguës.

L'ulcère de la cornée à *M. duplex liquefaciens* présente d'après Petit un aspect assez particulier. Les malades viennent en général consulter pour une rougeur intense de la conjonctive tarsienne et bulbaire sans sécrétion muco-purulente. Ils n'ont pas de photophobie, à peine dans certains cas, ressentent-ils quelques douleurs périorbitaires. Et cependant l'examen de la cornée montre l'existence d'une petite ulcération superficielle, à fond grisâtre, à bords décollés, à marche extensive.

L'affection est tout à fait semblable à l'ulcère serpiginieux à pneumocoque, mais sans les douleurs intenses qui l'accompagnent en général. Elle se complique fréquemment d'hypopyon de la chambre antérieure. Sous l'influence du traitement, l'ulcère évolue vers la guérison en trois semaines environ.

Après le travail de Petit, les ulcères cornéens à *M. duplex liquefaciens* furent retrouvés assez souvent (Mac Nab, Oreste, Paul) quoique l'affection ne paraisse pas très fréquente (Erdmann en signale 1 cas sur 30 ulcérations cornéennes).

Nous avons eu l'occasion de rencontrer un cas de conjonctivite subaiguë à diplobacille *liquefaciens* à la consultation du service du Professeur Terrien. Il s'agit d'un enfant âgé de dix mois, atteint depuis six jours d'une conjonctivite bilatérale ; chaque matin, les paupières sont agglutinées par une sécrétion

purulente. A l'examen, on constate une rougeur très prononcée de la conjonctive palpébrale des deux yeux, la conjonctive bulbaire n'est pas injectée et semble normale. Il n'y a pas d'œdème des paupières ni de la conjonctive. La sécrétion est franchement purulente, grisâtre et abondante. Elle se rassemble à l'angle interne et s'écoule hors de l'œil. Elle est beaucoup plus importante que celle qui accompagne les conjonctivites à bacille de Morax, si l'on s'en rapporte aux descriptions classiques. Tous les auteurs signalent en effet la minime quantité de sécrétion se formant dans la journée. L'ensemencement du pus conjonctival prélevé à l'anse de platine est effectué sur sérum coagulé. Au bout de vingt-quatre heures, la surface du milieu présente de nombreuses colonies liquéfiantes et des colonies de bacille pseudo-diphtérique. Nous pratiquons un frottis sur lame avec une des colonies liquéfiantes. Coloré par la méthode de Gram, il montre à l'examen microscopique un diplobacille ne prenant pas le Gram, tout à fait comparable au diplobacille de Morax. Il est alors isolé et identifié. La culture sur gélose ordinaire, en bouillon, en eau peptonée est positive et très abondante. Depuis l'isolement, une trentaine de passages en eau peptonée ont été effectués et la multiplication dans ce milieu est toujours aussi active. Le sérum coagulé et la gélatine sont liquéfiés très rapidement. Comme nous l'avons déjà dit, ce sont bien les caractères fondamentaux de *M. duplex liquefaciens* et il nous paraît hors de doute que celui-ci soit capable de donner, dans certains cas, des conjonctivites.

Comme le bacille de Morax, le bacille de Petit peut végéter sur la conjonctive saine. Les faits de cette nature sont rarement signalés, mais 3 cas publiés permettent de l'affirmer.

Oreste isole deux fois le bacille de Petit de conjonctives absolument saines. Dans chacun de ces cas, l'œil opposé avait été atteint, quelques semaines auparavant, d'ulcère cornéen avec hypopyon et était complètement guéri. Les diplobacilles furent isolés et les cultures furent instillées dans le cul-de-sac conjonctival de deux sujets sains. Ils ne provoquèrent aucun symptôme de conjonctivite et avaient disparu au bout de vingt-quatre heures.

Plus tard, Chiazzaro, au cours d'examens systématiques, pratiqués avant l'opération de la cataracte eut l'occasion d'iso-

ler d'une conjonctive saine, un diplobacille de Petit. Le malade n'avait jamais souffert d'ulcère cornéen. La virulence de la bactérie n'a pas été éprouvée. Il paraît donc démontré que *M. duplex liquefaciens* peut vivre sur des muqueuses conjonctivales sans provoquer de troubles, sans que l'on puisse dire s'il s'agit d'espèces peu virulentes ou d'une résistance particulière du terrain.

Les recherches pour retrouver le bacille de Petit dans les fosses nasales ont été d'abord négatives (Petit), puis Coppez en 1925 publie un cas positif, celui d'un malade atteint de kératite.

Le bacille de Petit n'a jamais été signalé dans les fosses nasales de personnes indemnes d'affection oculaire.

Pouvoir pathogène expérimental. — Etant donné le fait que *M. duplex liquefaciens* est considéré comme l'agent étiologique de l'ulcère cornéen, le pouvoir pathogène expérimental sur l'homme a été très peu étudié. Aucune souche isolée d'ulcération cornéenne n'a été inoculée sur la conjonctive humaine.

Oreste instilla sans résultat, sur la conjonctive de deux personnes, les bactéries qu'il avait isolées de conjonctives saines. L'inoculation à l'homme de notre souche n'a pas été tentée.

Le pouvoir pathogène du bacille *liquefaciens* sur les animaux de laboratoire est nul (Petit). Les injections intracornéennes au lapin, de culture de vingt-quatre heures, ne provoquent qu'une petite infiltration grisâtre, guérissant en quelques jours sans qu'il y ait prolifération de la bactérie dans les lames de la cornée (Petit). Par voie intraveineuse chez le lapin, intrapéritonéale chez le cobaye, on n'obtient aucune réaction. La souris n'est pas réceptive à l'inoculation par voie sous-cutanée.

Certains caractères morphologiques et cultureux étant communs à la *Moraxella* des Bovidés dont nous parlerons ultérieurement, et à *M. duplex liquefaciens*, nous avons tenté l'inoculation de celle-ci à la conjonctive d'un jeune veau mis obligeamment à notre disposition par M. Césari.

Un cent. cube environ d'une culture de vingt-quatre heures en eau peptonée-sérum est déposé dans le cul-de-sac conjonc-

tival inférieur. On ne remarque, les jours suivants, aucune réaction. Un prélèvement fait sur la conjonctive quelques jours plus tard n'a pas permis de retrouver la bactérie inoculée.

En résumé, *Moraxella duplex liquefaciens* est le type de l'espèce *duplex* définie par la possibilité de multiplication en eau peptonée sans sérum.

On doit établir le diagnostic de variété sur la liquéfaction du sérum coagulé et de la gélatine, la variété *liquefaciens* étant comme son nom l'indique, liquéfiant ; la variété *non liquefaciens* qui sera étudiée maintenant ne l'étant pas.

Moraxella duplex variété *non liquefaciens* (Scarlett 1916).

En plus du bacille de Morax et de celui de Petit, un troisième diplobacille est découvert par Scarlett en 1916 dans un ulcère cornéen grave. Semblable à *Moraxella lacunata typica* par sa morphologie, il en diffère par ses caractères cultureux. Scarlett lui donne le nom de *B. non liquefaciens*. Il est retrouvé en 1921 par Olivier et Wherry dans des sécrétions bronchiques.

La description qui suit est empruntée à l'étude de Scarlett.

Etude bactériologique. — Les caractères morphologiques donnés par l'auteur sont semblables à ceux de *Moraxella lacunata typica*. Dans le pus et les cultures, *M. d. non liquefaciens* se présente sous la forme d'un diplobacille allongé, non capsulé. Il ne prend pas le Gram et ne forme pas de spores.

Sur gélose ordinaire, la bactérie se développe rapidement à 37°, et donne en vingt-quatre heures des colonies de 1 millim. 5 de diamètre, rondes, à demi-transparentes, à centre opaque un peu surélevé. Sur les mêmes milieux laissés à la température du laboratoire, les caractères des colonies restent les mêmes mais le développement est plus lent et les colonies n'apparaissent qu'au bout de deux à quatre jours.

Ensemencée en bouillon peptoné, la bactérie donne en vingt-quatre heures un trouble abondant qui augmente les jours suivants. Elle n'a pas besoin de sérum pour se multiplier et appartient donc à l'espèce *duplex*. Ensemencée par piqûre sur

gélatine et laissée à 22°, elle se multiplie en surface et le long du trait d'ensemencement mais ne liquéfie pas le milieu.

La culture sur sérum coagulé donne des colonies petites et à demi-transparentes, sans liquéfaction. Ce caractère très important distingue immédiatement le bacille *non liquefaciens* du bacille *liquefaciens*.

Le lait, la pomme de terre, la carotte ne permettent pas son développement.

Scarlett a étudié son action sur la dextrine, le maltose et le glucose par culture sur gélose tournesolée additionnée d'une solution de ces trois glucides. Il n'a constaté aucune acidification des milieux. En gélose Veillon, il ne donne des colonies qu'à la surface, il est aérobie strict. Il se multiplie parfaitement à 22° mais lentement. La température optima est 37°.

Il est peu résistant à la chaleur et est tué par chauffage à 50° pendant cinq minutes.

Ayant eu connaissance du travail de Chainé sur la différenciation de *Moraxella lacunata typica* et de *M. duplex liquefaciens* par les méthodes sérologiques, Scarlett applique les mêmes méthodes aux trois diplobacilles. Ayant préparé des lapins par injection de cultures de bacilles de Morax, de Petit et de bacille *non liquefaciens*, il met leur sérum en présence de suspensions de bactéries.

Les réactions d'agglutination directe sont positives pour une dilution du sérum au 1/100. Les réactions de précipitation directe sont positives au 1/150. Il n'y a pas de réaction d'agglutination et de précipitation croisées quelle que soit la dilution du sérum.

L'étude des caractères cultureux et sérologiques met ainsi clairement en évidence les différences importantes existant entre ces trois bactéries malgré leur ressemblance morphologique.

Pouvoir pathogène spontané. — *M. duplex non liquefaciens* a été isolée par Scarlett d'un cas d'ulcère cornéen dont nous allons relater succinctement l'histoire clinique.

L'affection débute brusquement par des douleurs orbitaires et péri-orbitaires violentes ; le malade présente rapidement une baisse considérable de la vision qui se réduit bientôt à la

perception lumineuse seulement. A l'examen, on constate un ulcère cornéen central de 2 millimètres de diamètre dont le fond paraît gris blanchâtre, les bords sont nets et taillés à pic. Il s'accompagne d'une injection conjonctivale et périkeratique très accusée, d'une inflammation de l'iris sans synéchies, d'un hypopyon de la chambre antérieure de 4 millim. 5 de hauteur. Le malade ressent des douleurs intenses à la pression du globe oculaire. Le traitement institué amène la guérison mais il persiste un leucome adhérent central amenant une baisse de la vision ne permettant de distinguer que les mouvements des doigts devant les yeux.

L'intensité des douleurs et la gravité de l'évolution font de ce cas d'ulcère cornéen un tableau clinique très différent de celui des ulcères à bacille de Petit.

Oliver et Wherry retrouvèrent *Moraxella duplex non liquefaciens* dans l'expectoration muco-purulente de bronchites aiguës et chroniques. Sa présence y semble assez rare, mais dans les cas positifs on le rencontre en grande quantité

Pouvoir pathogène expérimental. — Scarlett a étudié sur les animaux de laboratoire le pouvoir pathogène de la bactérie qu'il avait isolée.

L'injection de III gouttes de culture de vingt-quatre heures en bouillon dans la chambre antérieure de l'œil d'un lapin provoque un trouble de la cornée au point d'inoculation, de l'hyperhémie périkeratique et un exsudat de la partie supérieure de la chambre antérieure. Tous ces phénomènes disparaissent rapidement et, quatre jours après l'inoculation, on ne voit plus qu'une infiltration grisâtre de la cornée. Au sixième jour, il ne persiste plus qu'une petite tache cornéenne.

Dans une deuxième expérience, quelques gouttes de culture sont déposées à la surface de la cornée ayant subi au préalable, après lavage et cocaïnisation, un grattage de sa partie centrale. Dans les jours suivants apparaît une petite tache grise au point d'inoculation mais pas d'ulcère véritable.

L'inoculation de quelques gouttes de culture dans les lames de la cornée du lapin est suivie de l'apparition d'une ulcération se colorant à la fluorescéine. Deux jours après l'inoculation, la sécrétion conjonctivale est déjà très marquée. Des

prélèvements effectués sur la conjonctive et sur l'ulcère montrent le diplobacille en abondance. Le quatrième jour, l'œil est très enflammé, l'iris est injecté, l'ulcération persiste mais le nombre des diplobacilles diminue dans la sécrétion. Les jours suivants, les symptômes s'atténuent, la guérison est complète dix-huit jours après l'inoculation.

Par injection sous-cutanée chez la souris on n'obtient aucun résultat.

Certes, le pouvoir pathogène expérimental de cette bactérie est faible, mais c'est la seule *Moraxella* qui ait pu jusqu'à maintenant se multiplier dans les lames de la cornée d'un animal de laboratoire.

Moraxella duplex variété *josephi* (Scarlett 1916).

Nous rapprocherons des *Moraxella* que nous venons de décrire un diplobacille isolé par Chaillous à l'hôpital Lariboisière d'un ulcère de la cornée. Scarlett (1916) en fait une brève description et lui donne le nom de *duplex josephi*.

Etude bactériologique. — Nous avons peu de détails sur son aspect morphologique, nous savons seulement qu'il ressemble au diplobacille de Morax mais prend le Gram.

Dans les cultures, il présente les caractères suivants :

Sur gélose ascite inclinée, il donne en vingt-quatre heures, à 37°, un développement luxuriant de grosses colonies grisâtres, à demi-opaques dont le diamètre atteint 2 millimètres à 2,5 millimètres. Sur gélose ordinaire, la culture est très abondante, les colonies sont étalées et épaisses. Ensemencée sur bouillon peptoné, la bactérie se multiplie rapidement, produit un trouble très accusé. Elle forme à la surface du milieu un voile léger non cohérent. Le sérum de bœuf coagulé ne permet pas un développement aussi abondant que la gélose, les colonies sont plus petites, le milieu n'est pas liquéfié. En gélatine, sur pomme de terre et dans le lait, il n'y a pas de culture.

Il est aérobic strict.

Le *duplex josephi* a été isolé par Chaillous dans les conditions suivantes : un malade atteint d'herpès de la cornée pré-

sente, deux jours après le début de l'affection, de vives douleurs. A l'examen, on aperçoit sur les bords de l'érosion deux points d'infiltration grisâtre. La chambre antérieure est occupée par un hypopyon de 3 millimètres de hauteur. L'acuité visuelle est considérablement diminuée. Au troisième jour de l'affection, un prélèvement montre des diplobacilles très nombreux en culture pure. Un second prélèvement effectué le septième jour ne montre plus que des bacilles massués. Le traitement amène la guérison complète en treize jours.

Le pouvoir pathogène s'est montré nul sur les souris blanches (inoculation par voie sous-cutanée).

Le bacille *duplex josephi* et le bacille *duplex non liquefaciens* présentent donc dans les cultures une similitude presque absolue. La réaction de Gram paraît seule les différencier. L'existence d'une variété Gram-positive de *Moraxella duplex* nous paraît possible. En effet, nous avons nous-même isolé une variété de *Moraxella lacunata*, non liquéfiante, et qui est, nous l'avons montré, moins Gram-négative que les *Moraxella* habituelles. Cependant nous estimons qu'une nouvelle étude du bacille *duplex josephi* est nécessaire avant de l'inclure définitivement dans le genre *Moraxella*, nous n'avons pas assez de détails morphologiques pour le classer avec certitude et peut-être serait-il à rapprocher de certaines espèces de *Corynebacterium* qui présentent parfois un aspect diplobacillaire.

Moraxella duplex des Bovidés.

En 1923, deux Américains, Jones et Little, ont découvert sur la conjonctive de certains Bovidés un diplobacille pathogène déterminant une conjonctivite aiguë se compliquant parfois d'ulcération cornéenne. Ils en ont fait une étude complète et l'ont rapproché du diplobacille de Morax dont il présente en effet un grand nombre de caractères.

Nous reproduirons la description donnée par Jones et Little, l'affection n'ayant pas encore été retrouvée en France ; nous l'avons nous-même recherchée sans succès sur de nombreux Bovidés des abattoirs de Paris.

Etude bactériologique. — **MORPHOLOGIE.** — L'étalement de pus sur lame, coloré par le bleu de méthylène montre, au milieu de cellules épithéliales et de leucocytes, des bactéries très abondantes dont la morphologie est semblable à celle du bacille de Morax. Ce sont, d'après la relation de Jones et Little, des bacilles courts, à extrémités arrondies, disposés en général par paires. Dans les cultures, ils sont souvent un peu renflés aux extrémités. Ils ont une longueur assez uniforme et mesurent 1 μ . 3 à 2 μ . de long sur 0 μ . 5 de large.

Sur milieux solides, ils se présentent en diplobacilles ou en courtes chaînes. En bouillon, on voit fréquemment des chaînes de 4 à 8 éléments. Ils sont immobiles, asporulés.

Des capsules bien développées ont été mises en évidence dans plusieurs préparations.

L'ayant regardé tout d'abord comme bacille Gram-positif, Jones et Little remarquent qu'il résiste mal à la décoloration par l'alcool et pensent qu'il doit être considéré comme ne prenant pas le Gram.

CARACTÈRES CULTURAUX. — La *Moraxella* des Bovidés se développe lentement à la température du laboratoire. Elle se multiplie rapidement sur les milieux au sang à 37°. Les cultures sur gélose contenant 8 p. 100 de sang de cheval défibriné donnent au bout de vingt-quatre heures des colonies arrondies, épaisses et visqueuses, de teinte grisâtre, entourées d'une zone d'hémolyse. Les colonies atteignent en quarante-huit heures un diamètre de 3,5 à 4 millimètres.

La *Moraxella* des Bovidés se multiplie aussi sur gélose-sérum, mais en donnant des cultures moins abondantes.

Le sérum coagulé présente un début de liquéfaction dix-huit heures après l'ensemencement. La digestion du milieu est complète en quinze jours.

Sur gélose-sérum en piqure, on obtient une culture en surface. La multiplication de la bactérie sur gélatine à 22° est lente. Le milieu est liquéfié.

En bouillon, elle se développe lentement, produisant un trouble léger et un dépôt abondant granuleux. Nous n'avons aucune précision sur le nombre de passages effectués sur ce milieu de culture.

La *Moraxella* des Bovidés se multiplie en lait tournesolé et alcalinise le milieu. La caséine est en partie coagulée.

La pomme de terre ne permet pas son développement.

Elle ne fait fermenter aucun glucide et ne produit pas d'indol en eau peptonée.

Elle est peu résistante à la chaleur et est tuée en cinq minutes à 58°.

Déposée sur une lame stérile et abandonnée à la température du laboratoire elle meurt en trois jours.

Pouvoir pathogène spontané. — Jones et Little eurent l'occasion de rencontrer de nombreux cas de conjonctivite aiguë chez des Bovidés et purent en étudier les caractères cliniques.

L'apparition de l'affection est soudaine, brutale chez un animal n'ayant présenté aucune lésion traumatique de l'œil. On observe de la photophobie, du larmolement. Les paupières sont gonflées, la conjonctive tarsienne très rouge. Les vaisseaux de la conjonctive bulbaire sont injectés. On note souvent une rougeur vive de la membrane nictitante. Une sécrétion épaisse, jaunâtre se rassemble dans l'angle interne et s'écoule hors de l'œil. Enfin on voit des flocons de pus sur la conjonctive et le globe oculaire.

Très fréquemment, la conjonctivite se complique d'ulcères de la cornée et, dans 3 cas, Jones et Little observent une opacité extensive de la cornée qui fait craindre la perte de la vision. Mais une amélioration spontanée se produit et amène la guérison.

L'affection est parfois limitée à un œil ; fréquemment l'œil opposé est contaminé secondairement.

Dans la sécrétion, on retrouve constamment le diplobacille décrit plus haut.

On ne signale jamais d'épidémies, les cas restent isolés ou peu nombreux dans les élevages. On ne peut déterminer la façon dont se transmet l'affection. Jones et Little suggèrent que les mouches pourraient en être les agents de propagation.

Pouvoir pathogène expérimental. — La virulence de la *Moraxella* des Bovidés est, d'après Jones et Little, nulle pour les souris et les lapins, les bactéries étant introduites par voie sous-cutanée et intrapéritonéale.

L'instillation d'une suspension d'exsudat purulent ou de culture sur la conjonctive de lapin ou de cobaye ne donne aucun résultat.

L'injection par voie intrapéritonéale d'une suspension de culture à des lapins et à des cobayes ne provoque aucun trouble. Mais par inoculation à des Bovidés jeunes, les auteurs parviennent à reproduire une maladie expérimentale en tous points semblable à l'affection spontanée. Nous rappellerons l'une des expériences les plus caractéristiques relatées par Jones et Little dans leur travail.

L'exsudat de 2 cas aigus de conjonctivite bovine est mis en suspension saline et instillé sur le globe oculaire droit d'un taureau. Pendant les trois jours qui suivent l'inoculation, l'œil paraît absolument normal. Le quatrième jour, apparaît une injection des vaisseaux de la conjonctive bulbaire. La membrane nictitante et la conjonctive palpébrale sont rouges. Les yeux semblent sensibles à la lumière. Un exsudat considérable, épais et jaunâtre s'est rassemblé à l'angle interne. L'examen microscopique du pus montre un grand nombre de diplobacilles. L'ensemencement donne de nombreuses colonies.

La sécrétion purulente continue à se produire pendant trois à quatre jours puis diminue. Douze jours après l'inoculation, l'œil gauche présente à son tour les mêmes symptômes. L'examen microscopique de la sécrétion montre de même de nombreux diplobacilles. La réaction oculaire disparaît en une dizaine de jours. Mais les yeux paraissant normaux présentent toujours une légère sécrétion qui, trente-quatre jours après l'inoculation, contient toujours le même bacille. Un traitement consistant en instillations de sulfate de Zinc à 1 p. 40 amène la disparition totale des bactéries en trois jours.

Cette expérience a été réalisée plusieurs fois, toujours avec le même succès.

On peut déduire de cette étude expérimentale un certain nombre de faits intéressants : il est manifeste que le diplobacille trouvé par Jones et Little est l'agent étiologique de la conjonctivite aiguë des Bovidés, une simple instillation de culture est en effet capable de provoquer l'affection expérimentale ; le diplobacille atteint les muqueuses saines, toutes lésions traumatiques ayant été soigneusement évitées pendant

l'expérimentation. Enfin, il peut persister après la guérison clinique de l'affection, qu'elle soit expérimentale ou spontanée.

Y a-t-il identité entre la *Moraxella* des Bovidés et *M. lacunata typica* comme Jones et Little paraissent le suggérer ? Il n'est pas possible de l'affirmer. Elle semble plutôt, par ses caractères culturels, se rapprocher de *M. duplex liquefaciens*, mais en l'absence de précisions sur le nombre de repiquages faits en milieux sans sérum, il n'est pas possible de rattacher avec certitude la *Moraxella* des Bovidés à l'espèce *duplex* plutôt qu'à l'espèce *lacunata*.

Il serait intéressant d'étudier le pouvoir pathogène de la *Moraxella* des Bovidés sur l'homme et inversement celui de *M. lacunata typica* sur les Bovidés. Nous avons montré que, dans une expérience, une souche de *M. duplex liquefaciens* s'était montrée dépourvue de pouvoir pathogène pour le veau. De nouvelles recherches restent nécessaires pour préciser cette question.

IV

Moraxella Lwoffii, nov. sp.

Nous avons isolé de l'œil de divers malades deux variétés d'une bactérie que nous rattachons au genre *Moraxella*. Mais alors que les espèces connues de ce genre, *Moraxella lacunata* et *Moraxella duplex*, sont incapables de se multiplier dans les milieux synthétiques simples, dépourvus de facteurs de croissance — leur culture n'ayant en fait été obtenue qu'en eau peptonée additionnée ou non de sérum — *Moraxella Lwoffii* n. sp. se multiplie en l'absence de tout facteur de croissance.

Cette propriété, s'ajoutant aux propriétés communes aux *Moraxella* servira à définir l'espèce, représentée aujourd'hui par deux variétés :

1° Une variété *bacteroides* nov. var. constituant le type de l'espèce ;

2° Une variété *brevis* nov. var.

Moraxella Lwoffii variété *bacteroides*, nov. var.

Nous avons isolé l'une des variétés de *Moraxella Lwoffii* d'une suppuration conjonctivale chronique chez un aveugle. Nous créons pour elle le nom de *bacteroides* nov. var.

Etude bactériologique. — MORPHOLOGIE. — Du point de vue morphologique, cette bactérie se présente comme une *Moraxella* typique, correspondant en tous points à la description que nous avons faite des *Moraxella*.

En eau peptonée et sur gélose, elle a l'aspect d'un diplobacille aux angles émoussés.

Elle mesure 1 μ 8 à 3 μ de longueur en moyenne sur 1 μ de large. Elle est immobile, non capsulée, ne prend pas le Gram, fixe facilement les couleurs d'aniline. Les bactéries sont parfois, dans les milieux de culture, disposées en courtes chaînes de 8 à 10 éléments. Elles donnent, après trois ou quatre jours de culture, des formes d'involution filamenteuses atteignant 10 à 20 μ .

Si nous ensemençons cette bactérie en milieu synthétique de formule :

PO ₄ HK ₂	4,5	} (ajoutés après stérilisation).
SO ₄ (NH ₄) ²	0,75	
KCl	0,5	
SO ₄ Mg	0,05	
Eau distillée	1.000	
Citrate de fer	0,01	}
CaCl ₂	0,01	

et de pH 7,4, auquel nous ajoutons de l'alcool éthylique, par exemple, comme aliment carbonné énergétique, nous obtenons des cultures qui sont indéfiniment repiquables. Mais l'aspect morphologique dans un tel milieu devient différent de l'aspect normal : les bactéries sont beaucoup plus courtes, en diplocoques, et affectent même parfois la forme de diplocoques en grain de café. Dans les cultures âgées on ne voit pas de formes d'involution filamenteuses.

De nombreux travaux ont déjà montré que l'addition de diverses substances aux milieux de culture provoque des variations morphologiques bactériennes, ainsi on sait qu'en présence d'urée le *Bacillus prodigiosus* donne des formes filamenteuses et le bacille de Yersin se transforme en coccus (Gurney-Dixon) ; par culture sur milieux biliés, le *B. coli* prend la forme d'un diplocoque (Adami).

La variation morphologique que nous avons obtenue n'est pas due à la présence de l'alcool éthylique ; elle est constante avec toutes les substances employées dans nos expériences et utilisées par la bactérie comme aliment carbonné (sels d'acides gras, polyacides, acides aminés, etc.).

Il ne s'agit pas non plus de l'action de substances toxiques entravant son développement, puisque, dans ces milieux synthétiques elle se multiplie activement, donnant en vingt-quatre

heures des cultures au moins aussi abondantes qu'en eau peptonée et parfois même plus abondantes.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Ensemencée sur gélose ordinaire, la bactérie donne en vingt-quatre heures des colonies de 1 millim. 5 à 2 millimètres de diamètre, opaques, de teinte blanc jaunâtre.

Elle se multiplie parfaitement dans le milieu synthétique dont nous avons plus haut donné la formule, additionné d'un aliment carboné convenable.

En bouillon peptoné, elle donne un trouble abondant.

Sur sérum coagulé on obtient une culture abondante sans liquéfaction du milieu.

Le lait tournesolé est alcalinisé après huit jours de culture. Elle se multiplie bien dans la gélatine sans la liquéfier. Sur pomme de terre, elle donne une culture abondante, de teinte brunâtre en six à huit jours, caractère propre jusqu'ici à *Moraxella Lwoffii*.

La recherche de l'indol, dans les cultures en eau peptonée, faite par la méthode d'Ehrlich reste négative tandis qu'elle est positive dans les cultures-témoin de *B. coli*.

La bactérie n'attaque aucun des glucides que nous avons étudiés (glucose, lévulose, galactose, arabinose, saccharose, lactose, maltose, inuline, glycérine, mannite, amidon). Le milieu de culture additionné d'une solution de ces glucides est alcalinisé. Le pH avant l'ensemencement étant à 7.4 est, au dixième jour de culture, compris entre 7.6 et 8.2. Le témoin est à pH 8.1. Ces glucides, ajoutés au milieu synthétique mentionné plus haut, pour remplacer l'alcool, ne sont pas utilisés par la bactérie comme aliment carboné, et ne permettent pas sa multiplication.

Elle est aérobie stricte.

Elle se développe très bien quand la température est comprise entre 18° et 33°. La multiplication est très faible à 37°.

Il s'agit donc d'une bactérie qui possède les caractères morphologiques et biologiques essentiels des *Moraxella*. Elle en présente aussi l'habitat et le pouvoir pathogène.

Elle est différente des *Moraxella lacunata* par sa faculté de se multiplier en l'absence de sérum.

Elle se distingue, d'autre part, des *Moraxella duplex* par sa possibilité de multiplication en milieu synthétique, caractère que ne possède pas *M. duplex liquefaciens* ainsi que nous l'avons vérifié.

L'absence de liquéfaction du sérum coagulé et de la gélatine est également un caractère de *M. duplex non liquefaciens* de Scarlett et la question se pose de l'identité de ces deux variétés. Elle ne peut être résolue car Scarlett n'a pas essayé de cultiver sa bactérie en milieu synthétique et elle n'existe pas dans les Collections de Bactéries. *A priori*, il n'est pas impossible que l'espèce *duplex* comprenne, comme l'espèce *lacunata*, une variété non liquéfiante. Nous rattachons comme Scarlett la variété *non liquefaciens* à l'espèce *duplex*, mais ce rapprochement reste pour le moment entièrement hypothétique.

Nous créons pour la bactérie que nous venons de décrire une nouvelle espèce, *Moraxella Lwoffii nov. sp.* caractérisée par son plus grand pouvoir de synthèse que prouve la culture en milieu synthétique. L'absence de développement des *Moraxella duplex* en milieu synthétique montre en effet qu'elles n'ont pas le pouvoir de synthétiser certaines substances indispensables à leur développement, alors que *M. Lwoffii* possède ce pouvoir. On sait que des bactéries très voisines peuvent présenter des différences dans leurs besoins de facteurs de croissance. C'est le cas par exemple de l'*Hemophilus influenzae*, qui ne diffère de l'*Hemophilus parainfluenzae* que parce que sa culture nécessite la présence d'hématine (facteur X) et de phospho-pyridinonucléotides (facteur V) alors que l'*H. parainfluenzae* n'a besoin que de facteur V et synthétise l'hématine.

La troisième espèce de *Moraxella*, *M. Lwoffii nov. sp.* est donc définie par la possibilité de multiplication en milieu synthétique. Les variétés connues jusqu'ici n'ont pas le pouvoir de liquéfier le sérum. La variété type de cette nouvelle espèce est la variété *M. Lwoffii bacterioides nov. var.* que nous venons de décrire, elle présente la morphologie typique de *Moraxella lacunata* et de *M. duplex*.

Moraxella Lwoffii variété *brevis*, nov. var.

Au cours des examens systématiques pratiqués à la consultation du service du Professeur Terrien, à l'Hôtel-Dieu, sur les malades atteints de conjonctivite, nous avons isolé une bactérie qui ne nous semble pas avoir été décrite jusqu'ici et qui se rapproche de *M. Lwoffii bacteroides* dont nous venons de parler. Nous l'avons rencontrée deux fois en culture pure dans une conjonctivite et un ulcère cornéen et associée à des cocci et à des bacilles pseudo-diphtériques dans deux autres cas de conjonctivite.

Nous allons relater succinctement l'histoire clinique de nos malades. Nous ferons ensuite l'étude bactériologique et expérimentale de ce microorganisme.

ETUDE CLINIQUE.

OBSERVATION I. — Le malade G... se présente à la consultation atteint de conjonctivite catarrhale bilatérale. Le début de son affection remonte à plusieurs semaines. Il se plaint de larmoiement, de démangeaisons et de brûlures des paupières. Celles-ci ne sont pas agglutinées au réveil. Il a en effet les paupières rouges et irritées. Les conjonctives tarsiennes sont injectées, les conjonctives bulbaires sont sensiblement normales. Au moment de l'examen la sécrétion est très peu marquée et se rassemble à l'angle interne. Tous les symptômes sont plus accusés à l'œil gauche. De la sécrétion conjonctivale recueillie nous faisons un frottis et, recherchant à cette époque le diplobacille de Morax, un ensemençement sur sérum coagulé.

Le frottis coloré au bleu de méthylène montre des filaments de fibrine, peu d'éléments cellulaires, quelques cocci et des bacilles courts. Au bout de vingt-quatre heures, la culture donne quelques petites colonies d'un bacille court, à extrémités arrondies, montrant le plus souvent un groupement diplobacillaire. Il ne prend pas le Gram. Repiquée sur gélose ordinaire, cette bactérie se multiplie très abondamment et donne des colonies plus larges et épaisses, de teinte bleutée par transparence. Nous avons pu remarquer ultérieurement que le sérum coagulé est un milieu défavorable sur lequel elle ne se développe bien qu'après adaptation.

OBSERVATION II. — M^{me} T... souffre depuis six mois d'une conjonctivite subaiguë évoluant par poussées. Les symptômes sont les mêmes que dans l'observation précédente, brûlures des paupières et sensation de « gravier » dans l'œil. La malade observe chaque matin une notable sécrétion. A l'examen, la conjonctive palpébrale est très rouge et

injectée, mais notre attention est attirée par des lésions de perlèche labiale dont notre malade accuse l'existence depuis plusieurs mois. Quelques auteurs attribuant la perlèche au diplobacille de Morax (Lobanoff, Yshihara, Gabrielidès) les prélèvements effectués sur la conjonctive droite et sur les commissures labiales sont ensemencés sur sérum coagulé.

Les cultures faites avec la sécrétion de la perlèche ne montrent que du staphylocoque et du streptocoque. La culture de la sécrétion conjonctivale ne donne aucune colonie, mais dans l'eau de condensation du tube se trouvent de très nombreux diplobacilles ne prenant pas le Gram, dont chaque élément est court et trapu. Le repiquage sur gélose donne en vingt-quatre heures des colonies bleutées à centre opaque.

OBSERVATION III. — M^{me} B... est atteinte de conjonctivite catarrhale légère, bilatérale, depuis deux mois. Elle se plaint surtout de larmoiement et de difficulté du travail à la lumière. Les paupières sont parfois collées le matin. A l'examen, la malade présente des conjonctives tarsiennes injectées et une petite sécrétion muco-purulente que nous ensemençons. Nous obtenons en vingt-quatre heures une culture pure du diplobacille.

OBSERVATION IV. — Un enfant âgé de sept ans est amené à la consultation pour une affection oculaire ayant débuté brusquement la veille. Il a en effet l'œil droit très rouge et larmoyant, les paupières sont œdématisées. Il se plaint de photophobie et de douleur orbitaire. A l'examen, on remarque une conjonctive très injectée mais on ne décèle aucune sécrétion. Sur la cornée, à sa partie supéro-externe, se trouve un petit ulcère à fond grisâtre, à bords nets. Il est apparu spontanément et apparemment sans traumatisme. Après cocaïnisation, nous faisons un prélèvement à l'aide d'une aiguille stérile. Un frottis coloré par la méthode de Gram montre une très grande quantité de bactéries ne prenant pas le Gram. Ce sont des bacilles épais et courts, aux extrémités émoussées, isolés ou disposés par paires. Ils sont absolument semblables aux bactéries isolées dans les 3 cas de conjonctivite cités précédemment. Il n'y a aucun autre microbe associé. Malheureusement, nous n'avons pas pu l'obtenir en culture.

ETUDE BACTÉRIOLOGIQUE.

Nous avons fait une étude aussi complète que possible des trois souches isolées. Elles n'ont montré dans tous les milieux que des différences minimales et peuvent être considérées comme appartenant à la même espèce et à la même variété.

Pour la clarté de notre exposé nous les désignerons par les lettres *T*, *G* et *B*, indiquant de quel malade nous les avons isolées. Nous signalerons immédiatement que la souche *G* donne, dans tous les milieux, des cultures moins abondantes que les deux autres.

MORPHOLOGIE. — Les bactéries prennent leur aspect le plus caractéristique en culture de vingt-quatre heures en milieu liquide. Chacune d'elles a la forme d'un bacille court, élargi au centre ; ses extrémités sont arrondies ou un peu effilées. Elles sont en général groupées par deux éléments nettement séparés par un espace clair. Parfois elles sont isolées ou en courtes chaînettes de 6 à 7 éléments. On peut rencontrer sur les préparations des formes très courtes ressemblant à des diplocoques.

Dans les cultures âgées, elles donnent des formes de dégénérescence, globuleuses et à peine colorées, ou des filaments épais et irréguliers paraissant constitués par des bactéries fusionnées. Sur milieux solides, le groupement en diplobacille est retrouvé dans les cultures jeunes, chaque élément étant légèrement plus court qu'en milieu liquide. Lorsque la culture est plus âgée (trois à quatre jours) l'aspect diplobacillaire disparaît, les bactéries sont agglutinées et difficiles à dissocier.

Elles mesurent en moyenne 1 μ 3 à 2 μ de long sur 0 μ 8 de large. Elles sont immobiles, ne sont pas capsulées et ne donnent pas de spores. Elles se colorent facilement par le bleu de méthylène et les colorants usuels et ne prennent pas le Gram.

Si nous ensemençons cette bactérie dans le milieu synthétique employé pour *M. Lwoffii bacteroides*, nous constatons qu'elle s'y multiplie parfaitement et nous observons les mêmes variations morphologiques. Les diplobacilles deviennent extrêmement rares, on ne voit pratiquement plus que des diplocoques arrondis ou en grains de café, en tous points semblables au gonocoque ou au *Micrococcus catarrhalis*.

Il convient de souligner que les formes diplobacillaires ne disparaissent jamais complètement, elles persistent dans la proportion de 1 p. 1.000 environ. Nous avons cherché, par des repiquages en série sur ce milieu, à fixer la forme coccus et à éliminer complètement la forme *bacterium*. Cela nous a été impossible. Si nous transportons en eau peptonée ordinaire les cultures entretenues sur milieu synthétique pendant douze jours, nous remarquons dès le premier passage une augmentation des éléments diplobacillaires, et au troisième passage

les diplocoques en grain de café ont presque entièrement disparu.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Tout comme *Moraxella Lwoffii bacterioides*, la variété *brevi*s est capable de se multiplier en milieu synthétique (v. formule p. 43) dont l'aliment carboné est constitué par de l'alcool éthylique.

La bactérie, ensemencée sur gélose, donne des colonies de 1,5 à 2 millimètres, arrondies, à bords réguliers. Elles sont bleutées et transparentes à la périphérie, opaques au centre. La souche *G* se multiplie moins abondamment, et les colonies sont plus petites, plates et transparentes.

Les trois souches se développent bien en bouillon peptoné. En vingt-quatre heures, le milieu de culture est troublé dans toute sa hauteur. Un dépôt filant se forme au fond du tube. Mais par vieillissement, elles se comportent un peu différemment.

Après huit jours de culture environ, la souche *T* donne à la surface du bouillon un anneau muqueux, le milieu devient visqueux et répand une odeur nauséabonde ; la culture de la souche *B* ne présente qu'un anneau ; celle de la souche *G* ne subit aucune transformation. Les caractères de culture des trois souches sont les mêmes en eau peptonée.

Sur sérum coagulé la culture est très faible au début de l'isolement, mais après plusieurs repiquages elle devient plus riche, restant cependant toujours moins abondante que sur gélose.

En lait tournesolé la bactérie se multiplie bien. Le milieu devient alcalin.

Ensemencée sur gélatine par piqûre et laissée à 22°, elle se multiplie lentement et en surface. Le milieu n'est pas liquéfié même après un mois de culture.

Sur pomme de terre, nous avons obtenu une culture très pauvre des souches *T* et *B* seulement.

La recherche de l'indol en eau peptonée faite suivant la méthode d'Ehrlich après dix jours de culture est négative, tandis qu'une culture-témoin de *Bacterium coli* donne une réaction positive dans les mêmes conditions d'expérience.

Nous avons recherché l'action de la bactérie sur certains

glucides : glucose, lévulose, galactose, saccharose, lactose, maltose, arabinose, inuline, amidon, glycérine, mannite. Dans ce but nous l'avonsensemencée en eau peptonée additionnée de quelques gouttes d'une solution de ces substances. Nous avons fait deux séries d'expériences : dans la première le pH a été mesuré après trois jours de culture, dans la seconde après sept jours. Dans les 2 cas les résultats ont été les mêmes, il n'y a pas eu de production d'acide. Les milieux contenant les glucides, comme les milieux témoins, subissent une légère alcalinisation : le pH mesuré au potentiomètre étant 7,4 avant l'ensemencement, est à la fin de l'expérience entre 7,6 et 8,3.

Nous n'avons pas pu obtenir de culture dans le milieu synthétique décrit plus haut dépourvu d'alcool et additionné de ces glucides. La bactérie se révèle incapable d'utiliser ceux-ci comme aliment carboné.

Elle est aérobie strict ; ensemencée sur gélose de Veillon elle ne se développe qu'en surface.

Elle se multiplie parfaitement à 22° mais la température maxima compatible avec le développement est variable. Les souches *T* et *B* donnent de bonnes cultures à 39°, la souche *G* n'en donne pas au-dessus de 37°. La température optima pour les trois souches est voisine de 33°. Les trois souches conservent leur vitalité pendant plus d'un mois sur gélose à 22°.

POUVOIR PATHOGÈNE EXPÉRIMENTAL.

Les bactéries ne semblent pas pathogènes pour les animaux de laboratoire.

Par voie intrapéritonéale, nous injectons à 3 souris blanches 0,75 cent. cube de culture de vingt-quatre heures en eau peptonée de chacune de nos souches. Les animaux présentent le lendemain quelques troubles dus vraisemblablement à l'injection de peptone, puisqu'ils disparaissent les jours suivants. A l'autopsie, pratiquée un mois plus tard, nous ne pouvons déceler aucune altération organique.

Sur la conjonctive saine de 3 cobayes, nous instillons III gouttes de culture de vingt-quatre heures en eau peptonée de chaque souche. Il apparaît le lendemain une rougeur conjonctivale fugace sans sécrétion.

La même expérience est tentée sur 3 lapins sans résultat.

Nous avons essayé de réaliser l'inoculation de la bactérie par scarification de la cornée. Après irrigation à l'eau physiologique du globe oculaire d'un lapin, nous pratiquons de légères scarifications et nous y déposons quelques gouttes de culture. Les paupières sont maintenues fermées pendant quelques minutes. Nous n'obtenons aucune réaction.

Injectée dans la chambre antérieure de l'œil, la bactérie provoque l'apparition d'un exsudat de la chambre antérieure et une réaction irienne légère. La guérison se produit spontanément en une dizaine de jours.

Les expériences sur les Bovidés nous furent facilitées par M. Césari qui mit aimablement un animal à notre disposition. Les inoculations de deux souches faites dans le cul-de-sac conjonctival de chaque œil d'un jeune veau ne provoquent pas de réaction notable.

Nous tentons alors l'inoculation sur notre conjonctive. Nous choisissons pour cela la bactérie *B* trouvée à l'état de pureté dans une conjonctivite. 1 goutte de culture de vingt-quatre heures en eau peptonée est déposée dans le cul-de-sac conjonctival de notre œil gauche. On ne constate, les jours suivants, ni réaction, ni sécrétion appréciables. Malheureusement cette expérience a été faite quatre mois après isolement de la bactérie et celle-ci peut avoir perdu sa virulence par la culture prolongée *in vitro*.

Nous avons essayé de la retrouver sur des conjonctives saines ; jusqu'à maintenant nos recherches ont été négatives.

DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL. — Son aspect en milieu synthétique la rapprochant du *Micrococcus catarrhalis*, nous pourrions nous demander si cette bactérie n'est pas un *M. catarrhalis* adapté à la conjonctive et ayant subi du fait de cette adaptation de légères variations morphologiques et culturales. Les différences dans les cultures de ces deux microorganismes sont en effet assez légères et consistent pour le *M. catarrhalis* en culture moins abondante sur les milieux usuels, absence d'alcalinisation du lait tournesolé, absence de culture en milieu synthétique, anaérobiose facultative. Mais une étude plus attentive nous permet d'éliminer cette hypothèse. Les

conjonctivites à *Micrococcus catarrhalis* sont rares mais elles sont cependant connues et 8 cas ont été décrits. Elles ont été surtout bien étudiées par Morax (1924) et Hamburger (1936). Or, dans tous les cas publiés, le *M. catarrhalis* présente dans la sécrétion conjonctivale l'aspect caractéristique d'un diplocoque en grain de café, et il conserve dans les cultures ses caractères classiques. Nous pouvons donc considérer les deux bactéries comme appartenant bien à deux espèces différentes.

Caractères cultureux comparatifs
de *Micrococcus catarrhalis* et de *Moraxella Lwoffii brevis*.

	GÉLOSE	CULTURE en milieu synthétique	CULTURE sur pomme de terre	ACTION sur les glucides	LAIT tournesolé	AÉROBIOSE
<i>Micrococcus catarrhalis</i> .	Petites colonies.	0	0	0	Pas d'alcalinisation.	Facultative.
<i>M. Lwoffii brevis</i> .	Grosses colonies.	+	0 ou très faible.	0	Alcalinisation.	Stricte.

Si nous considérons ses caractères morphologiques en milieu synthétique, nous pouvons être tentés de faire de cette bactérie une Micrococcacée. Cependant, en milieu peptoné, elle se présente sous forme bactérienne indubitable et nous avons montré, d'autre part, que *M. Lwoffii bacteroïdes* qui montre la morphologie typique des *Moraxella* en milieu peptoné, présente également des formes coccoides en milieu synthétique. D'autre part, par tous ses caractères physiologiques, cette bactérie se rapproche des *Moraxella* et en particulier de *M. Lwoffii bacteroïdes*. Si nous n'avions pas connu cette dernière espèce, le rattachement de *M. Lwoffii brevis* au genre *Moraxella* aurait été moins solidement fondé ; il était cependant possible et nous avons en fait considéré la variété *Lwoffii brevis* comme une *Moraxella* avant de connaître la variété *Lwoffii bacteroïdes*.

Le genre *Moraxella* considéré dans son ensemble.

Nous pouvons maintenant considérer l'ensemble des formes que nous venons d'étudier, retenir leurs caractères communs qui serviront à définir le genre *Moraxella* et rappeler leurs caractères différentiels, afin de séparer les espèces et les variétés.

DÉFINITION DU GENRE. — Le genre *Moraxella* (Lwoff, 1939) est défini par les caractères suivants : bactéries immobiles mesurant $0\ \mu\ 3$ à $1\ \mu$ de large, sur $1\ \mu\ 3$ à $3\ \mu$ de long, présentant un groupement diplobacillaire caractéristique, donnant des chaînes dans les cultures, produisant souvent des formes d'involution longues, non capsulées, asporulées, en général Gram-négatives. Elles sont le plus souvent parasites de la muqueuse oculaire. Les espèces connues jusqu'ici ne font pas fermenter les glucides et ne produisent pas d'indol.

SUBDIVISION DES ESPÈCES. — Nous utilisons, avec A. Lwoff, le pouvoir de synthèse pour la définition des espèces. C'est ainsi que le besoin de sérum — besoin d'un ou plusieurs facteurs de croissance indéterminés présents dans le sérum — servira à définir l'espèce *lacunata*. Mais pour les formes pouvant se passer de sérum, nous trouvons deux espèces très différentes, l'espèce *duplex*, dont le développement n'a jusqu'ici été obtenu qu'en eau peptonée — c'est-à-dire que cette espèce a besoin d'un ou plusieurs facteurs de croissance — et l'espèce *Lwoffii* qui se multiplie en milieu synthétique non additionné de facteurs de croissance.

Dans chacune des espèces nous distinguons des variétés définies par le pouvoir ou l'absence du pouvoir de liquéfier le sérum coagulé et la gélatine, et le caractère : coloration ou décoloration par la méthode de Gram. L'examen du tableau ci-contre montre l'ensemble des espèces et variétés du genre, pour la détermination desquelles nous donnons une clef dichotomique.

Les espèces et variétés du genre *Moraxella*.

	<i>M. Lwoffii</i>		<i>M. Duplex</i>				<i>M. Lacunata</i>	
	<i>bacteroïdes</i>	<i>brevis</i>	<i>liquefaciens</i>	<i>non liquefaciens</i>	<i>josephi</i>	<i>des Boylès</i>	<i>typica</i>	<i>atypica</i>
Milieu synthétique	+	+	0	?	?	?	0	0
Eau peptonée	+	+	+	+	+	+	0	0
Eau peptonée + sérum . .	+	+	+	+	+	+	+	+
Pomme de terre	+	+	0	?	?	?	0	0
Liquéfaction du sérum . .	0	0	+	0	0	+	+	0
Acidification des glucides .	0	0	0	0	0	0	0	0
Indol	0	0	0	?	?	0	0	0
Gram	—	—	—	—	+	—	—	—

Clef dichotomique pour la détermination des espèces et des variétés appartenant au genre *Moraxella*.

Développement en milieu synthétique : I.

Pas de développement en milieu synthétique : II.

I. *Moraxella Lwoffii*.

a) Formes normales : *M. Lwoffii bacteroïdes*.

b) Formes courtes : *M. Lwoffii brevis*.

II. Développement en eau peptonée non additionnée de sérum : A.

Pas de développement en eau peptonée non additionnée de sérum : B.

A. *Moraxella Duplex* :

a) Liquéfaction du sérum coagulé et de la gélatine : *M. d. liquefaciens*.

b) Pas de liquéfaction du sérum coagulé et de la gélatine.

α) Ne prenant pas le Gram : *M. d. non liquefaciens*.

β) Prenant le Gram : *M. d. josephi*.

B. *Moraxella lacunata* :

a) Liquéfaction du sérum coagulé et de la gélatine : *M. l. typica*.

b) Pas de liquéfaction du sérum coagulé et de la gélatine : *M. l. atypica*.

EXIGENCES THERMIQUES. — Les diverses espèces et variétés de *Moraxella* présentent des exigences thermiques différentes. L'examen du tableau ci-contre montrera le comportement des diverses formes. On notera en particulier que *Moraxella lacunata typica* et *atypica*, contrairement à toutes les autres espèces du genre étudiées jusqu'ici, ne se développent pas à 22°. On remarquera aussi que certaines variétés se développent à 39° et d'autres non. Mais il existe une zone thermique, entre 28° et 37°, qui permet le développement de toutes les formes. Cependant, la température de 37° semble, pour certaines variétés, au voisinage de la température limite et, au point de vue pratique, il est préférable d'adopter la température de 35° pour l'isolement et l'entretien des souches.

Développement des *Moraxella* en fonction de la température.

	<i>M. Lwoff</i>		<i>M. duplex</i>				<i>M. lacunata</i>	
	1 <i>bacteroides</i>	2 <i>brevis</i>	3 <i>liquefaciens</i>	4 <i>non liquefaciens</i>	5 <i>josephi</i>	6 des Bovidés	7 <i>typica</i>	8 <i>atypica</i>
22°	+	+	+	+	?	+	0	0
28°	++	+	+	+	?	+	+	+
35°	+	+	+	+	?	+	+	+
37°	++	+	+	+	+	+	+	+
39°	0	+	+	?	?	?	0	0

1, 2 et 3, résultats personnels; 4, 5, Scarlett; 6, Jones et Little; 7 et 8, résultats personnels.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — *Situation du genre Moraxella d'après la classification américaine.* — Le genre *Moraxella* peut être inclus dans la famille des Bactériacées (bâtonnets asporulés). La famille des Bactériacées telle que la comprend la classification américaine (Bergey's Manual of determinative Bacteriology, 1939) groupe de nombreuses tribus :

Les *Pasteurella* qui sont caractérisées par leur coloration bipolaire, les *Klebsiella*, par la présence de capsule, les *Hemophilæ* par la nécessité du sang ou de facteurs de croissance.

La question des *Hemophilæ* a déjà été étudiée ; A. Lwoff a montré que le bacille de Morax-Axenfeld devait en être exclu. Seule la tribu des *Bacteriæ* pourrait inclure le genre

Moraxella. Elle répond, d'après la classification américaine, à la définition suivante : bâtonnets Gram-négatifs, trouvés en général dans le tractus intestinal. Beaucoup d'espèces attaquent les glucides en formant des acides et des gaz. Relativement peu d'espèces liquéfient la gélatine.

Elle groupe 7 genres. Six d'entre eux font fermenter divers glucides, le genre *Alcaligenes* seul n'en fait fermenter aucun.

Le genre *Alcaligenes* est ainsi défini : bactéries mobiles ou immobiles, ne donnant pas d'acéthyl-méthyl-carbinol, ne faisant pas fermenter les glucides. Mais les *Moraxella* sont morphologiquement différentes des bactéries du genre *Alcaligenes* qui sont des bâtonnets grêles et longs, sans groupement diplobacillaire.

Situation du genre Moraxella d'après la classification de Kluyver et Van Niel (1936). — Dans la classification de Kluyver et Van Niel (1936), les bactéries allongées sans endospores sont groupées dans la tribu des Bactériées. Cette tribu comprend en particulier deux genres dont les caractères physiologiques se rapprocheraient de ceux des *Moraxella*, ce sont les genres *Kurthia* (Trevisan, 1885) et *Alcaligenes* (Castellani et Chalmers, 1918), ils ont en commun les caractères suivants : bactéries en forme de bâtonnet, immobiles ou mobiles, ne donnant pas d'endospores, chimiohétérotrophes, attaquant des composés organiques variés. Ils ne diffèrent que par la coloration de Gram, le genre *Kurthia* comprenant des bactéries Gram-positives et le genre *Alcaligenes* des bactéries Gram-négatives.

Pour les raisons exposées plus haut, les espèces du genre *Moraxella* doivent être séparées des espèces du genre *Alcaligenes*.

Le genre *Moraxella* groupe donc un ensemble homogène de formes présentant des affinités naturelles certaines et il y a tout intérêt à les rassembler sous un nom générique commun.

CONCLUSIONS

1° Le genre *Moraxella* (Lwoff, 1939) est défini par les caractères suivants : bactéries immobiles mesurant $0\ \mu$ à $4\ \mu$ de large, sur $1\ \mu$ à $3\ \mu$ de long, présentant un groupement diplobacillaire caractéristique, donnant des chaînes dans les cultures, produisant souvent des formes d'involution longues ; non capsulées, asporulées, en général Gram-négatives. Elles sont le plus souvent parasites de la muqueuse oculaire. Les espèces connues jusqu'ici ne font pas fermenter les glucides et ne produisent pas d'indol.

Le type du genre *Moraxella* est *Moraxella lacunata* (Eyre, 1900, *emend*, Lwoff, 1939), variété *typica nov. var.* ou bacille de Morax-Axenfeld.

2° Nous utilisons avec A. Lwoff, pour la subdivision en espèces, les caractères tirés de l'étude des facteurs de croissance. Trois espèces ont été ainsi définies : *lacunata*, *duplex* et *Lwoffii*.

3° L'espèce *lacunata* groupe les *Moraxella* dont la croissance nécessite la présence de sérum dans les milieux de culture.

Le type de l'espèce est *M. lacunata* variété *typica, nov. var.* qui liquéfie la gélatine et le sérum coagulé. Nous y avons ajouté une seconde variété *M. lacunata atypica, nov. var.* qui ne liquéfie pas le sérum coagulé.

4° L'espèce *duplex* groupe les *Moraxella* se développant dans les milieux usuels (eau peptonée) non additionnés de sérum et ne se développant pas en milieu synthétique. Le type est *M. duplex liquefaciens*. Elle comprend trois variétés :

a) *M. d. liquefaciens* qui liquéfie le sérum coagulé et la gélatine et se décolore par la méthode de Gram.

b) *M. d. non liquefaciens* qui ne liquéfie pas le sérum coagulé ni la gélatine et est aussi Gram-négative. Nous laissons provisoirement cette variété que nous n'avons pu réétudier, dans l'espèce *duplex*, malgré notre ignorance de son comportement en milieu synthétique. Elle constituerait ainsi la

variété non protéolytique de *M. duplex* comme *M. lacunata atypica* est la variété non protéolytique de *M. lacunata*.

c) *M. josephi* ne liquéfie ni le sérum ni la gélatine. Elle est Gram-positive. La description morphologique incomplète que nous en possédons ne permet pas de la classer avec certitude.

3° La *Moraxella* des Bovidés (Jones et Little), est classée temporairement et avec doute dans l'espèce *duplex*. Elle pourrait être une variété de *M. duplex liquefaciens* adaptée à la conjonctive des Bovidés.

6° Nous avons isolé deux nouvelles variétés de *Moraxella* que nous groupons sous le nom de *Moraxella Lwoffii*, nov. sp.

L'espèce *Lwoffii* est caractérisée par la possibilité de son développement en milieu synthétique. Le type de cette espèce est la variété *M. Lwoffii bacteroïdes* dont les caractères morphologiques sont semblables à ceux de *M. lacunata typica* mais qui ne liquéfie pas le sérum coagulé ni la gélatine.

7° La seconde variété est *M. Lwoffii brevis*. Elle a les mêmes caractères culturaux que *M. Lwoffii bacteroïdes*, mais présente avec elle quelques différences morphologiques. Ces deux variétés se présentent en milieu synthétique sous forme de cocci.

8° D'après la classification du *Bergey's Manual* aussi bien que d'après celle de Kluyver et Van Niel, le genre *Moraxella* qui appartient à la famille des Bactériacées, se rapproche du genre *Alcaligenes* par ses caractères physiologiques, mais en diffère par ses caractères morphologiques.

Vu : Le Président de Thèse

E. VELTER.

Vu : Le Doyen de la Faculté,

M. TIFFENEAU.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

G. ROUSSY.

BIBLIOGRAPHIE

- ADAMI, ABBOTT et NICHOLSON. *Journ. exp. med.*, **4**, 1899.
- AXENFELD. *Centr. f. Bakt.*, **21**, 1897.
- BARTOK. *Zentr. f. Opht.*, **6**, p. 345.
- BIARD. Etude sur la conjonctivite subaiguë. *Thèse Fac. Méd. Paris*, 1897.
- BERGEY. *Manual of Determinative Bacteriology*, 4^e édit., Londres, 1934.
- FRONS. *Klin. Monats. f. Aug.*, **45**, p. 1 ; *Centr. f. Bakt.*, **48**, 1908, p. 141.
- CHAIINE (R.). *Annales d'Oculistique*, **152**, 1914, p. 330.
- CHIAZZARO. *Annales d'Oculistique*, **167**, 1930.
- COPPEZ. *Annales d'Oculistique*, **162**, 1925.
- ERDMANN. *Klin. Monats. f. Aug.*, 1905, p. 561.
- EYRE. *Journal Path. a. Bact.*, 1899.
- GURNEY-DIXON. *The transmutation of bacteria*, Cambridge, 1919.
- HAMBURGER. Conjonctivite aiguë à « *Micrococcus catarrhalis* ». *Gr. Arch. Opht.*, **135**, 1936, p. 277.
- HOFFMANN. Sur la conjonctivite diplobacillaire. *Gr. Arch. Opht.*, **98**, 1899, p. 638.
- JONES (F. S.) et LITTLE (R. B.). *Journ. Exp. Med.*, **38**, 1923, p. 139.
- LWOFF (A.). *Annales Inst. Pasteur*, 1938, p. 581 ; *Annales Inst. Pasteur*, **62**, 1939, p. 168.
- MAC NAB et AXENFELD. *Klin. Monats. f. Aug.*, 1904, p. 54.
- MARCHEL. *Variation et mutation en bactériologie*. Le François, éd., Paris, 1932.
- MORAX. Note sur un diplobacille pathogène pour la conjonctive humaine. *Annales Inst. Pasteur*, **6**, 1896 ; *Annales d'Oculistique*, **118**, 1897 ; Conjonctivite à *micrococcus catarrhalis*. *Annales d'Oculistique*, **161**, 1924, p. 401 ; L'infection diplobacillaire. *Annales d'Oculistique*, **169**, 1932.
- MORAX et PETIT. *Annales d'Oculistique*, **3**, 1898, p. 161.
- OLIVER et WHERRY. *Journ. Inf. Diseases*, **28**, 1921, p. 341.
- ORESTE. *Annales d'Oculistique*, **142**, 1909, p. 266.
- PETIT (P.). *Recherches cliniques et bactériologiques sur les infections aiguës de la cornée*. Steinheil, éd., Paris, 1900.
- PLAUT et ZELEWSKY. *Klin. Monats. f. Aug.*, **39**, 1901, p. 369.
- PRÉVOT. Etudes de systématique bactérienne. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, **15**, 1933.
- SALUS (R.). *Klin. Monats. f. Aug.* **1**, 1916, p. 238.
- SCARLETT. *An. d'Ocul.*, **153**, 1916, p. 100 et 485.
- TOPLEY et WILSON. *Principles of Bacteriology and Immunology*. Londres, 1936, p. 704.
- WALDSTEIN. *Graef. Arch. f. Opht.*, **2**, 1909.
- WOLMANN in MORAX. *An. d'Ocul.*, **169**, 1932.

EXPLICATIONS DE LA PLANCHE

1. *M. lacunata typica* (coll. Inst. Pasteur). Culture de 48 heures en bouillon + sérum. Formes d'involution.
 2. *M. lacunata atypica*. Culture de 24 heures sur gélose-sérum.
 3. *M. duplex liquefaciens* (souche personnelle). Culture de 24 heures en eau peptonée.
 4. *M. Lwoffii bacteroides*. Culture de 24 heures sur gélose.
 5. *M. Lwoffii bacteroides*. Culture de 24 heures en milieu synthétique.
 6. *M. duplex liquefaciens* (coll. Inst. Pasteur). Culture de 24 heures en eau peptonée.
 7. *M. Lwoffii brevis*. Culture de 48 heures en eau peptonée. Formes normales et formes d'involution.
 8. *M. Lwoffii brevis*. Culture de 24 heures en milieu synthétique.
 9. Frottis d'ulcère cornéen à *M. Lwoffii brevis*.
-



Microphotographies de Monsieur JEANTET, de l'Institut Pasteur.

